



Università di Pisa

Facoltà di Medicina e Chirurgia

Corso di Specializzazione in Patologia Clinica

Tesi di Specializzazione

**LA FOTOFERESI NEL TRAPIANTO DI FEGATO:
RISULTATI CON DONATORI OVER 70**

Relatore
Prof. Aldo PAOLICCHI

Co-relatori
Dr. Fabrizio SCATENA
Dr. Alessandro MAZZONI

Candidata
Dr.ssa Celeste GIAMPIETRO

Anno Accademico 2012/2013

Sommario

La fotoferesi: una storia lunga varie civiltà	5
Ammi Majus	5
Cronistoria del Secolo Scorso.....	6
La fotoferesi	7
Meccanismi d'azione	7
Effetti Collaterali	14
Controindicazioni e Accorgimenti	14
Controindicazioni ematologiche	15
Controindicazioni non ematologiche	15
Accessi venosi	15
Indicazioni all'utilizzo della fotoferesi	16
Linee Guida della American Society for Apheresis (ASFA)	16
Categorie	16
Livelli di evidenza	17
Gradi di raccomandazione	17
Indicazioni dell'ASFA all'impiego della Fotoferesi	18
Indicazioni della Sidem e della Gitmo all'impiego della Fotoferesi	19
Macchinari impiegati	20
Sistemi On-Line.....	20
Therakos UVAR XTS™	20
Sistemi Off-Line	22
Separatori cellulari	22
COBE® Spectra Apheresis System	22
OPTIA® Spectra Apheresis System	24
Sistemi di fotoattivazione: il sistema UVA PIT	24
Il trapianto di fegato.....	26
Introduzione.....	26
Cause.....	26
Infezione da HCV.....	26
Cause neoplastiche	29
Epatite acuta fulminante	30

Cirrosi post-epatitica	33
Cirrosi biliare primitiva	34
Cirrosi alcolica	34
Colangite sclerosante primitiva	35
Errori congeniti del metabolismo	35
Sindrome di Budd-Chiari	36
Terapia	36
Trapianto di fegato.....	36
Intervento chirurgico	38
Normative vigenti	38
Trapianti: la ricetta del successo spagnolo.....	41
Terapia immunosoppressiva.....	41
Terapia antivirale	45
Fotochemioterapia Extracorporea (ECP) o Fotoferesi o Fotoaferesi (FAF)	46
Complicanze Mediche.....	47
Disfunzioni renali	48
Ipertensione arteriosa.....	49
Scompenso cardiaco	50
Alterazioni polmonari.....	50
Alterazioni ematologiche	51
Alterazioni neuropsichiatriche.....	51
Alterazioni metaboliche ed elettrolitiche.....	52
Alterazioni dell'apparato digerente	53
Complicanze Infettive	53
Infezioni virali.....	54
Infezioni da miceti.....	57
Infezioni parassitarie (opportunistiche)	58
Graft Versus Host Disease.....	60
Rigetto Acuto.....	60
Diagnosi	60
Prevalenza	61
Rigetto Cronico.....	61
Diagnosi	61
Prevalenza	62

Immunotolleranza nel Trapianto di Fegato	62
Lo studio pisano: dati e risultati	63
Fotoferesi e Trapianti di Fegato: Protocolli Sperimentali	63
I trapianti di fegato in Italia	65
Pazienti e metodi.....	66
Caratteristiche del gruppo studio	66
Calendario procedure.....	67
Caratteristiche gruppo di controllo.....	68
Gruppo dei pazienti con organo donato inferiore ai 70 anni	69
Macchinari utilizzati per la fotoferesi.....	70
Risultati	70
Analisi dei dati.....	70
Conclusioni	71
Bibliografia	73

La fotoferesi: una storia lunga varie civiltà

Ammi Majus

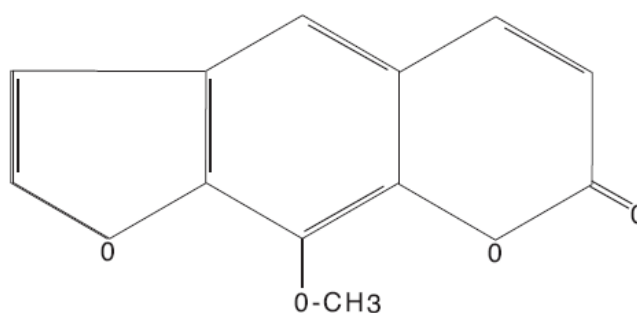
Nei tempi antichi molte malattie della pelle venivano considerate forme di lebbra. La leucodermia spesso si riscontrava nel morbo di Hansen (lebbra), e probabilmente la paura di essere evitati come lebbrosi spinse i malati di vitiligine ad utilizzare preparazioni orali e topiche della pianta Ammi Majus Linn (Umbelliferae o Apiaceae, famiglia di piante dicotiledoni) per risolvere queste manifestazioni cutanee. La preparazione grezza assunta per bocca causava molti effetti collaterali gravi, in particolar modo a livello epatico.¹

Originaria dell'Egitto² ma largamente distribuita nella zona del Mediterraneo e dell'Asia occidentale, oggi viene coltivata anche in India³, da quando venne introdotta nel Forest Research Institute, a Dehra Dun nel 1955 per il suo valore medicinale e ornamentale.⁴

L'Ammi Majus, comunemente chiamata “Signora Pizzo” o “Erba Del Vescovo”, veniva ampiamente utilizzata per il trattamento di disturbi della pelle come psoriasi e vitiligine (leucodermia acquisita).⁵ Veniva usata anche come emmenagogo per regolarizzare le mestruazioni, come diuretico, e per il trattamento di lebbra, calcoli renali e infezioni del tratto urinario.⁶

Nel 1947 due biochimici egiziani, Fahmy e Abu-Shady, isolarono i principi attivi dai semi della pianta, ossia gli psoraleni o furocumarine o furanocumarine, composti altamente fotosensibilizzanti. Il principale costituente è l'8-MetOssiPsoralene (8-MOP o 8 MethOxiPsoralene o Metoxalene).⁷

Il principio attivo (psoralene) può essere trovato anche in frutta e verdura, tra cui fichi, limes, e pastinaca (tubero usato nel settore culinario).



La pianta Amni Majus (a sinistra).
La struttura molecolare dell'8-MOP (in alto).

Cronistoria del Secolo Scorso

Nel 1903 Niels Ryberg Finsen⁸ ricevette il Premio Nobel per la Fisiologia, grazie alle sue ricerche sugli effetti dell'esposizione alla luce ultravioletta per il trattamento del Lupus. In un primo momento la sua ricerca non si occupava di Lupus, ma di Vaiolo. Questo primo progetto era lontano dallo studio che Finsen seguì successivamente per il trattamento del Lupus e di altre malattie, ma fu fondamentale per la sua ricerca nel campo della fototerapia.⁹

Nel 1940 Abdul El Mofty confermò le osservazioni dei suoi predecessori secondo cui l'assunzione di un preparato della pianta Ammi Majus, in associazione con l'esposizione alla luce solare, si dimostrava efficace nel trattamento della vitiligine.¹⁰

Nel 1950 Lerner et al. riconobbero l'8-metossipsoralene (8-MOP) come principio attivo della pianta e ne confermarono l'effetto terapeutico sulla vitiligine ottenuto mediante esposizione alla luce.¹¹

Durante gli anni '70 diversi studi hanno dimostrato che l'irradiazione cutanea con raggi ultravioletti (UV) successivamente all'ingestione dell'8-MOP era efficace nel trattamento della psoriasi. Veniva così suggerito il nome PUVA (psoralene + UV-A) per questa alternativa terapeutica.¹²

Negli stessi anni Gilchrist et al. hanno dimostrato buoni risultati nel trattamento del linfoma cutaneo a cellule T con l'impiego del PUVA.¹³

Edelson et al. nel 1987 notarono che in laboratorio i linfociti T venivano sensibilizzati col metodo PUVA, il che portò allo sviluppo di una nuova terapia chiamata fototerapia extracorporea, nella quale i leucociti, rimossi dal paziente per aferesi, venivano trattati con l'8-MOP e successivamente irradiati con raggi ultravioletti A (UV-A) e poi reinfusi nel paziente.^{14,15}

L'anno successivo la FDA (Food and Drug Administration) approvò la fototerapia nel trattamento palliativo delle manifestazioni cutanee del linfoma cutaneo a cellule T (CTCL).

L'efficacia di questo trattamento nel linfoma cutaneo a cellule T (CTCL) associato ad effetti avversi minori ha incoraggiato la sperimentazione dello stesso in altre patologie mediate dalle cellule T come:

- graft-versus-host disease (GVHD)¹⁶ successiva a trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche,
- malattie autoimmuni (artrite reumatoide¹⁷, sclerosi sistemica¹⁸, lupus eritematoso¹⁹, pemfigo volgare,²⁰ artropatia psoriasica²¹, dermatite atopica²², morbo di Crohn²³),
- prevenzione del rigetto e induzione di tolleranza nei trapianti di organi solidi (cuore²⁴, polmone²⁵, reni²⁶, fegato).

La fotoferesi

La fotoferesi extracorporea o foto-chemioterapia (ECP) rappresenta la sintesi tra tecnologia, farmacologia, fisica medica ed immunologia clinica volte alla realizzazione di un presidio terapeutico di grande utilità nella modulazione del sistema immunitario.

È costituita da tre fasi diverse:

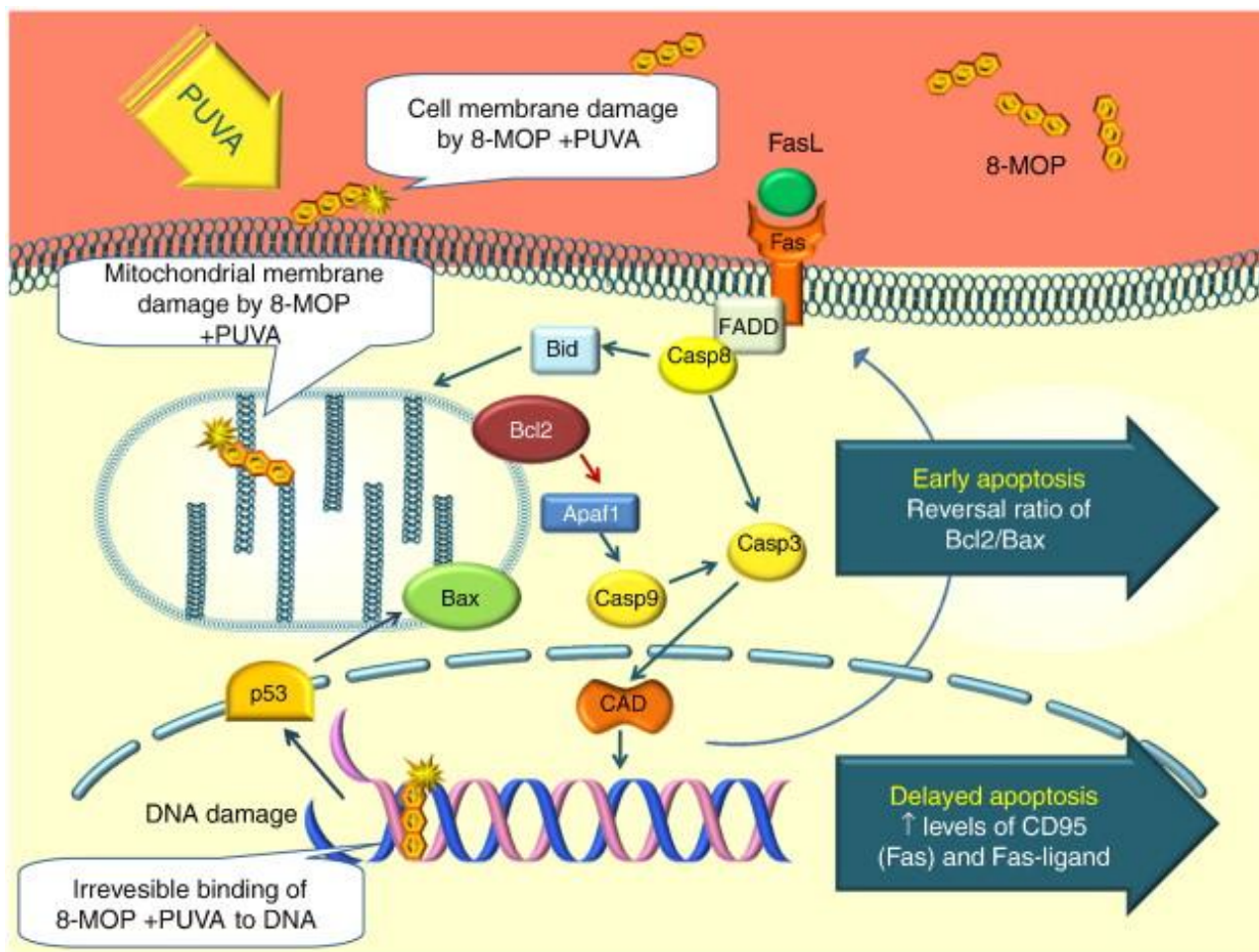
1. la leucoaferesi: si raccoglie il buffy-coat, ossia una sospensione di linfociti e cellule mononucleate (preferibilmente con alte concentrazioni di cellule mononucleate),
2. l'irradiazione con raggi UVA ($2\text{J}/\text{cm}^2$) del buffy-coat raccolto nella prima fase, dopo l'aggiunta di una sostanza fotosensibile (8-MOP),
3. la reinfusione delle cellule così trattate nel paziente attraverso un accesso venoso.²⁷

I sistemi utilizzabili attualmente presso il nostro centro sono tre e si possono classificare in sistemi on-line (o one-step) e sistemi off-line (o two-steps).

I meccanismi d'azione non sono ancora ben noti. Molti sono gli studi che mirano ad identificare i singoli passaggi e le cellule coinvolte in questa procedura, ma molti aspetti restano tuttora oscuri probabilmente perché coinvolgendo il sistema immunitario si entra in un processo molto complesso, caratterizzato da molti tipi cellulari nei vari momenti di maturazione con la presenza di feed-back positivi e negativi che rendono una singola via un'autostrada con svariati caselli per andare e tornare in svariati punti del sistema immunitario.

Meccanismi d'azione

Lo sviluppo della fotoferesi è basato sulle osservazioni iniziali dell'effetto benefico all'esposizione alle radiazioni UVA (320–400 nm) in alcune malattie eziologicamente associate a cloni patogeni di cellule T presenti nella pelle e/o nel sangue periferico come la psoriasi e il linfoma cutaneo a cellule T (CTCL).²⁸ L'efficacia biologica della radiazione ultravioletta A è ottenuta grazie all'utilizzo di molecole in grado di assorbire la radiazione UVA. Tali molecole, per esempio l'8-MOP, entrano rapidamente nei nuclei delle cellule e restano biologicamente inerti fino a quando non si verifica l'esposizione ai raggi UVA. In seguito all'irradiazione UVA, l'8-MOP diventa "attivo" e forma legami covalenti con le basi pirimidiniche del DNA, portando alla formazione di addotti monofunzionali (legandosi ad un solo filamento di DNA) e bifunzionali (cross-legando i due filamenti di DNA), causando l'apoptosi della cellula in questione.^{29,30}

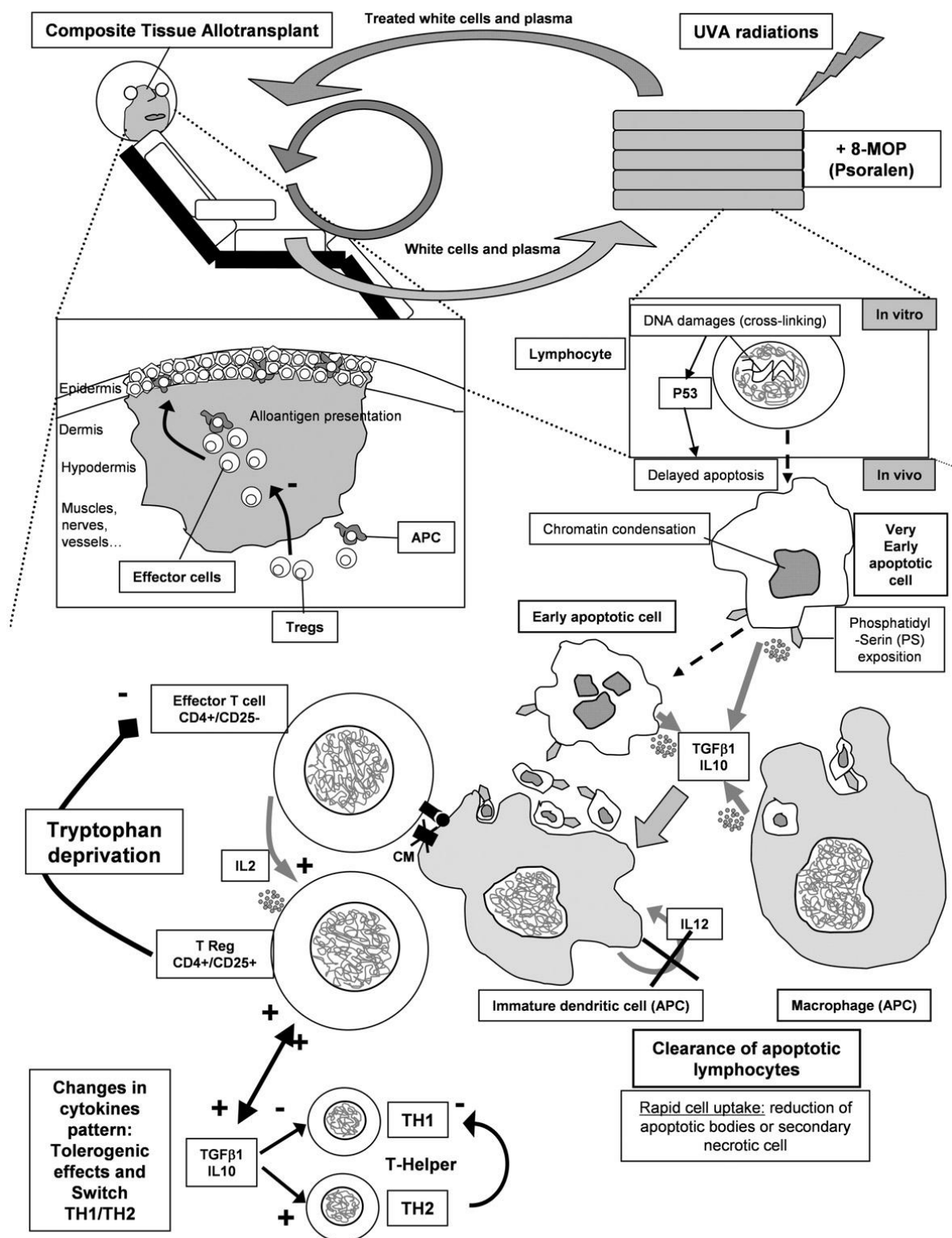


Durante la fototerapia l'8-MOP è esposto a UVA, si fotoinattiva e si lega covalentemente alle basi pirimidiniche del DNA, causando l'apoptosi.

L'apoptosi precoce comporta alterazioni della funzione mitocondriale, inversione del rapporto Bcl-2/Bax e esternalizzazione della fosfatidilserina.

Le cellule apoptotiche sono associate anche a livelli elevati di CD95 e Fas-ligando che portano alla apoptosi accelerata. Inoltre, le molecole 8-MOP fotoinattivate possono direttamente danneggiare la membrana cellulare.

Abbreviazioni: 8-MOP: 8-psoralene, PUVA: raggi ultravioletti A radiazioni.³¹



Principi di fotoferesi extracorporea in allotrasplantati di tessuti (alcuni dei meccanismi descritti per spiegare l'effetto immunomodulante della fotoferesi restano ipotetiche). APC: cellule presentanti l'antigene. CM: molecole costimolatorie (le cellule dendritiche immature non esprimono le molecole costimolatorie necessarie per attivare le cellule T effettrici, portando così ad anergia).³²

L'efficacia della fotoferesi nel trattamento della CTCL insieme al suo profilo di sicurezza hanno incoraggiato a testare questa terapia in molte altre patologie in cui erano coinvolte alterazioni delle cellule T, come patologie autoimmuni, ma anche nella prevenzione e nel trattamento del rigetto di trapianto di organo solido, nonché nella GVHD acuta e cronica dopo trapianto di cellule staminali.^{33,34,35}

La ricerca sul meccanismo d'azione della fotoferesi è ancora viva in quanto non è ancora completamente chiarito l'esatto meccanismo d'azione. I dati sperimentali che fanno luce sul meccanismo di azione della fotoferesi sono brevemente riassunti di seguito.

La fotoferesi induce l'apoptosi dei linfociti trattati entro le 24-72 ore successive al trattamento stesso. Al contrario, per ragioni non ancora chiare, i monociti sono resistenti agli effetti dell'8-MOP e dei UVA.³⁶

Dato che solo il 5-10% delle cellule mononucleate circolanti sono esposte a irradiazione UVA durante ogni procedura di fotoferesi, gli effetti benefici non possono essere attribuiti direttamente alla morte cellulare delle cellule T patogene.

Una grande quantità di dati provenienti da diversi studi supporta il concetto del potenziale tollerogenico dell'infusione di cellule apoptotiche. Dopo infusione di cellule allogeniche, la risposta immunitaria può essere immunogenica o tollerogenica a seconda che le cellule infuse siano in fase apoptotica precoce o già in fase necrotica.^{37,38}

Le cellule dendritiche (DC) immature sono residenti nei tessuti, hanno un'elevata attività endocitica, non esprimono molecole MHC sulla loro superficie, non esprimono molecole costimolatorie, e non hanno la capacità di presentazione dell'antigene.

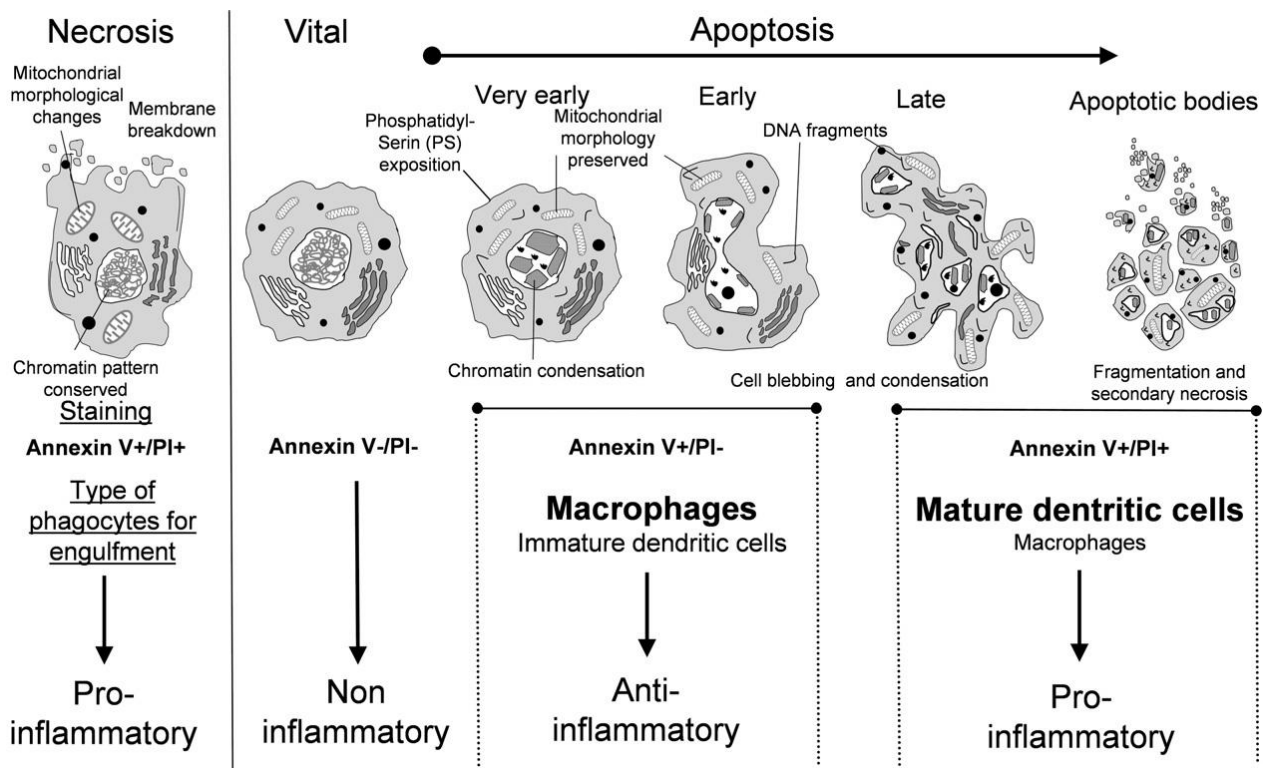
Le cellule dendritiche mature migrano verso le aree paracorticali dei linfonodi, non hanno attività endocitica, non esprimono alti livelli di molecole MHC sulla loro superficie, non esprimono molecole costimolatorie, ma hanno la capacità di presentare ai linfociti T peptidi antigenici precedentemente processati e complessati con molecole MHC.

Stimoli diversi promuovono la differenziazione delle DC immature in quelle mature. Tuttavia dati provenienti da vari studi hanno dimostrato che la distinzione delle cellule dendritiche in sottotipi immaturi e maturi è troppo semplicistica. Mentre le DC immature sono veri e propri spazzini dei tessuti incapaci di attivare la risposta immunitaria, le DC mature sono divise in almeno due sottotipi a seconda degli stimoli che hanno provocato la loro generazione.³⁹

Se le DC immature sono esposte ai cosiddetti segnali di pericolo, come ad esempio il lipopolisaccaride microbico (LPS) o pattern molecolari associati ai patogeni (PAMP, Pathogen Associated Molecular Patterns), poi si differenziano in DC pienamente mature e acquisiscono la capacità di promuovere l'attivazione del sistema immunitario. Al contrario, se le DC immature vengono esposte a cellule nella prima fase apoptotica, si differenziano in DC semi-mature. Le DC semi-mature migrano a livello dei linfonodi e mostrano tutte le caratteristiche delle DC a completa maturazione, ad eccezione della secrezione di citochine. Le DC semi-mature mantengono la capacità di presentare l'antigene ai linfociti T, ma a differenza delle DC mature promuovono la tolleranza immunitaria al posto dell'attivazione immunitaria.

In accordo coi dati già noti, recenti studi hanno dimostrato che le cellule presentanti l'antigene (APC) riconoscono le cellule apoptotiche (APoC) mediante i legami dei recettori associati

all'apoptosi coi ligandi congiunti dei recettori presenti sulla superficie delle APoC. I recettori della tirosin-kinasi TAM (Tyro3-Axl-Mer) ed i loro ligandi sono le molecole che giocano un ruolo molto importante nella fagocitosi delle APoC.^{40,41}



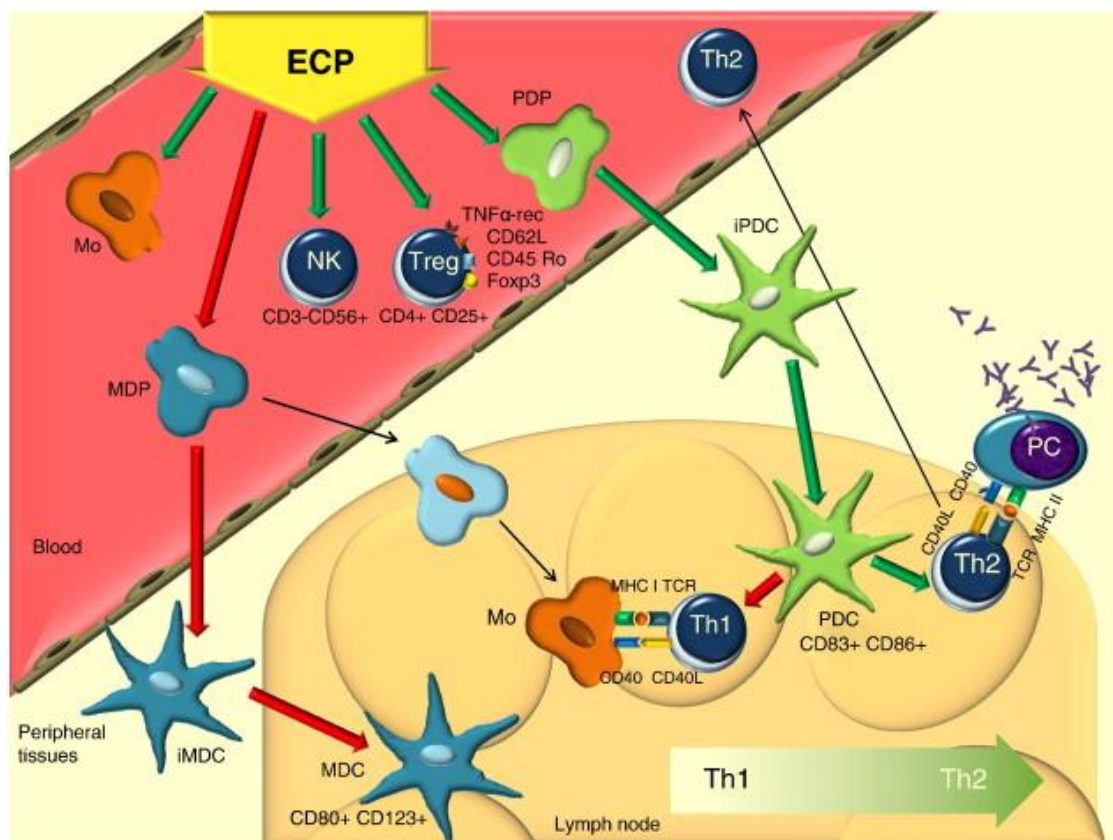
Differences in staining, phagocytes, and anti- or pro-inflammatory effects for the different stages in apoptosis. (Modified from Sheriff, A. et al., Apoptosis and systemic lupus erythematosus. *Rheum Dis Clin North Am*, 2004. 30(3): p. 505–27). Annexin V: Staining which binds phosphatidyl-serine residues once they are exposed on the outside of the cell membrane, which occurs at a very early stage of apoptosis. Propidium iodide (PI), staining can penetrate cells after the alteration of their membranes during necrosis and during the late stages of apoptosis.

Studi in vitro hanno dimostrato che la fotoforesi può indurre la differenziazione dei monociti in DC immaturi come risultato dell'adesione transitoria dei monociti alla camera di flusso di plastica.^{42,43} Spisek e colleghi hanno recentemente riportato che le cellule dendritiche di pazienti trattati con fotoforesi per GVHD cronica hanno mostrato caratteristiche immuno-fenotipiche caratteristiche delle DC immature.⁴⁴

Studi precedenti hanno mostrato che la fotoforesi induce la generazione di cellule T-regolatorie (T-regs) da cellule T-naïve, attraverso la secrezione di citochine antinfiammatorie quali IL-10 e TGF- β .^{45,46} Maeda et al. hanno eseguito un esperimento usando un modello di ipersensibilità da contatto nel topo. Successivamente all'esposizione al di-nitrofluoro-benzene (DNB) i topi hanno sviluppato dermatite da contatto. Gli splenociti e le cellule linfonodali dei topi precedentemente sensibilizzati al DNB sono state coltivate con l'8-MOP e irradiate con UVA. L'infusione sistemica delle cellule trattate con PUVA in topi naïve singenici ha provocato l'inibizione della reazione di ipersensibilità da contatto. Al contrario l'ipersensibilità da contatto si è verificata nei topi infusi con cellule non

trattate o con cellule esposte solo a UVA o solo all'8-MOP. L'inibizione che si verificava era cellulo-mediata e antigene-specifica, come dimostrato mediante il trasferimento della tolleranza dai donatori iniziali ai riceventi naïve. L'attività acquisita veniva persa quando le cellule infuse venivano impoverite delle sottopopolazioni cellulari CD4⁺ CD25⁺. Questi dati sostengono fortemente che la fotoforesi esercita la sua attività immunomodulante attraverso l'induzione di T-regs antigene-specifiche.⁴⁷

Biagi et al. in uno studio clinico hanno osservato che una risposta favorevole alla terapia fotoforetica nei pazienti con GVHD viene associata ad un aumento significativo nel sangue periferico delle cellule Tregs (CD4 + CD25 +) dal 8,9% al 29,1% del totale delle cellule T CD4⁺ dopo sei trattamenti di fotoforesi. Le cellule T-regs indotte dalla procedura fotoforetica esprimono livelli elevati di CD62L, CD45RO e FoxP3 e mostrano soppressione della risposta immune dipendente dal contatto cellula-cellula verso le cellule T effettrici con quasi completa eliminazione della secrezione di IFN- γ .⁴⁸

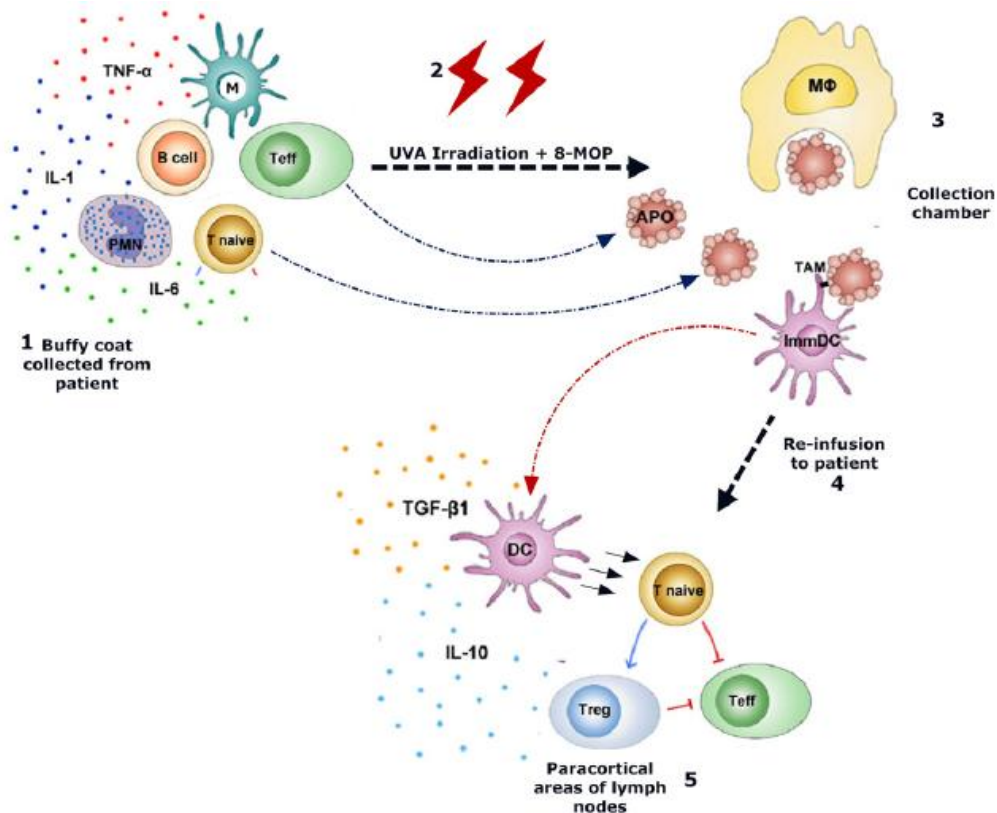


L'effetto complesso della fotoforesi su monociti, cellule T e cellule precursori dendritiche (DC) porta ad un cambiamento nel profilo di citochine di cellule Th da Th1 a Th2, un aumento CD3-CD56 + natural killer (NK), una diminuzione il numero di CD80 + e CD123 + monocitoidi DC, e un aumento dei monociti circolanti, dei precursori plasmacitoidi DC e del numero di cellule T regolatorie. Abbreviazioni: MDP: monocitoidi precursori delle cellule dendritiche, iMDC: immature monocitoidi cellule dendritiche, MDC: cellule dendritiche monocitoidi, PDP: plasmacitoidi precursori delle cellule dendritiche, iPDC: immature plasmacitoidi cellule dendritiche, PDC: cellule dendritiche plasmacitoidi, NK: cellule natural killer, Treg:

regolamentazione delle cellule T, Mo: monociti, ECP: fotoferesi extracorporea, PC: plasmacellulare, Th1: tipo 1 delle cellule T helper, Th2: di tipo 2 delle cellule T helper.

Prendendo in considerazione i dati precedenti, il meccanismo d'azione proposto per la fotoferesi è il seguente (vedi figura):

- i linfociti raccolti da pazienti, trattati con l'8-MOP e sottoposti a UVA vanno incontro ad apoptosi;
- i monociti si differenziano in DC immature garantendo in tal modo al paziente un gran numero di DC immature;
- i linfociti apoptotici sono riconosciuti dalle APC (cellule dendritiche immature e macrofagi) attraverso l'interazione con recettori specifici (come i recettori TAM);
- le DC immature dopo aver fagocitato le cellule apoptotiche si differenziano in DC semi-mature;
- le DC semi-mature migrano ai linfonodi, e acquisiscono la capacità di presentare peptidi antigenici recuperati dai corpi apoptotici ai linfociti T homing alle aree paracorticali dei linfonodi;
- le DC semi-mature, successivamente al contatto con le cellule T naïve, secernono quantità significative di citochine anti-infiammatorie quali IL-10 e TGF- β e danno luogo alla generazione delle Tregs, anziché attivare cellule T naïve;
- il gran numero di Tregs prodotte down-regola il processo alla base della GVHD tramite inattivazione delle cellule T effettrici.



“Extracorporeal photopheresis in refractory chronic graft-versus-host disease: The influence on peripheral blood T cell subpopulations. A study by the Hellenic Association of Hematology”

Effetti Collaterali

In tutto il mondo sono stati effettuati più di 500.000 trattamenti di fotoferesi. L'incidenza degli effetti collaterali riportati è estremamente bassa, inferiore allo 0,003%.^{49,50,51}

I possibili effetti collaterali possono dividersi in:

- lievi transitori:
 - mal di testa,
 - febbre (in genere 4-12 ore dopo la reinfusione delle cellule trattate),
 - brividi,
 - nausea,
- più gravi:
 - ipotensione,
 - sincope vaso-vagale,
 - infezioni cutanee localizzate presso la sede di un accesso venoso,
 - setticemia,
 - anemia,
 - anomalie della coagulazione.

La reazione avversa più frequente è la nausea. Non vi è alcun aumento del tasso di neoplasie maligne. Le reazioni gravi come la sincope vaso-vagale o le infezioni sono infrequenti. Significativamente l'incidenza delle infezioni correlate alla procedura è molto bassa e spesso relazionata all'uso di cateteri venosi. Molte delle complicazioni riguardano infatti l'accesso vascolare. Sarebbe preferibile utilizzare vene periferiche, ma i pazienti con cGVHD hanno frequentemente vene piccole, pertanto spesso deve essere usato un accesso alternativo. Quando vengono utilizzati cateteri venosi centrali, possono verificarsi complicazioni come infezioni, stenosi dei cateteri, trombosi venosa profonda⁵².

L'assenza di importanti effetti collaterali rende la fotoferesi un'ottima alternativa per le patologie per le quali i trattamenti alternativi sono altamente immunosoppressivi come metotrexate, deossicoformicina e CHOP (ciclofosfamide, doxorubicina, vincristina, prednisone) nella CTCL o come prednisolone, ciclosporina o azatioprina nella cGVHD⁵³.

Controindicazioni e Accorgimenti⁵⁴

La SIdEM (Società Italiana di Emaferesi e Manipolazione cellulare) e la GITMO (Gruppo Italiano Trapianto Midollo Osseo) pochi mesi fa hanno fornito delle raccomandazioni sull'impiego della fotoferesi nella GVHD sia nell'adulto che nel bambino.

Le controindicazioni attualmente individuate non sono molte e riguardano principalmente il fatto che la procedura prevede degli accessi venosi e una circolazione extracorporea. Possono essere classificate in ematologiche e non ematologiche.

Controindicazioni ematologiche

Nei pazienti con severa anemia o trombocitopenia la procedura fotoaferetica dovrebbe essere rinviata fino a correzione laboratoristica del quadro ematologico (emoglobina >8 gr/dL, piastrine >20000/mL) anche tramite adeguato supporto trasfusionale. Nei casi in cui il valore dei Globuli bianchi fosse inferiore alle 1000 unità/ml sarà necessario valutare caso per caso e porre maggiore attenzione al valore delle cellule mononucleate (preferibilmente non inferiori alle 200 cellule/mL). Importante tenere presente che nei pazienti più piccoli con peso inferiore ai 25 Kg potrà essere utile effettuare un priming del circuito con sangue compatibile adeguatamente preparato.

Controindicazioni non ematologiche

Costituiscono criteri assoluti di esclusione una grave compromissione cardiovascolare o renale. La febbre e un'infezione severa non costituiscono una controindicazione assoluta. La fotoferesi dovrebbe essere posticipata in presenza di sepsi con compromissione cardiovascolare con o senza febbre. Inoltre un diarrea severa (>1L/die) può causare instabilità emodinamica, con conseguente controindicazione relativa.

Accessi venosi

Prima di iniziare la procedura è necessario che vengano valutati gli accessi venosi, che devono essere adeguati per la procedura. Per minimizzare il rischio di infezioni relazionate all'uso di cateteri sono preferibili accessi venosi periferici con l'impiego di aghi di 17 gauge per la linea del prelievo e di 17-19 gauge per la linea del rientro. In ogni caso se è già disponibile un accesso venoso centrale potrà essere utilizzato per entrambe le linee di prelievo e reinfusione. Nei casi in cui gli accessi venosi periferici non fossero idonei si potrà pensare al posizionamento di un catetere venoso centrale con doppio lume (7-10 Fr nei bambini e 12-14 Fr negli adulti per assicurare un adeguato flusso, per esempio 2-5 mL/Kg/min) in succlavia o giugulare.

Indicazioni all'utilizzo della fotoferesi

Linee Guida della American Society for Apheresis (ASFA)

Le “Guidelines on the Use of Therapeutic Apheresis in Clinical Practice—Evidence-Based Approach from the Apheresis Applications Committee of the American Society for Apheresis” rappresentano lo stato dell'arte in medicina aferetica nel 2010⁵⁵. Come per le linee guida ASFA precedenti (2007)⁵⁶, il documento fornisce raccomandazioni pratiche, basate sull'evidenza per l'uso dell'aferesi terapeutica nella pratica clinica. Come per le precedenti edizioni, è stato progettato per essere facile da usare e per affrontare i comuni quesiti clinici. Le linee guida del 2010 sono state migliorate tramite l'inserimento in ogni scheda del sistema “GRADE” e la revisione della definizione di categoria III. Grazie ai continui aggiornamenti delle linee guida ASFA, l'edizione 2010 è stata ampiamente accettata in tutto il mondo.

Categorie

Nelle Linee Guida ASFA 2010 le indicazioni all'utilizzo delle procedure aferetiche sono divise in 4 categorie ognuna con un diverso grado di evidenza:

1. Nella prima categoria ritroviamo i disturbi per i quali l'aferesi è accettata come *terapia di prima linea*, sia come trattamento autonomo primario sia in combinazione con altre modalità di trattamento (per es.: Plasma-exchange nella sindrome di Guillain-Barre', come terapia di prima linea autonoma, plasmaferesi nella miastenia grave di prima linea in combinazione con terapia immunosoppressiva e con inibitori della colinesterasi).
2. Nella seconda categoria sono compresi quei disturbi per i quali l'aferesi è accettata come terapia di seconda linea, sia come trattamento autonomo o in combinazione con altre modalità di trattamento (per es.: Plasma-exchange come trattamento stand-alone di seconda linea per l'encefalomielite acuta disseminata dopo il fallimento di alte dosi di corticosteroidi IV; fotoferesi extracorporea (ECP) aggiunta ai corticosteroidi per graft-versus-host disease cronica refrattaria).
3. Nella terza categoria il ruolo ottimale della terapia con aferesi non è stabilito. Il processo decisionale deve essere individualizzato (per es.: fotoferesi extracorporea per la fibrosi sistemica nefrogenica, plasma-exchange nei pazienti con sepsi e insufficienza multi organo).
4. Infine nella quarta categoria ritroviamo quei disturbi per i quali le prove scientifiche pubblicate dimostrano o suggeriscono che l'aferesi risulta essere inefficace o addirittura dannosa. È auspicabile l'approvazione da parte dell'Institutional Review Board IRB nel caso in cui il trattamento aferetico venisse effettuato in queste circostanze (per es.: plasma-exchange nell'artrite reumatoide).

Livelli di evidenza

I livelli di evidenza sono valutati in base al tipo di studio effettuato per testare la procedura. Per esempio differiscono se lo studio condotto era randomizzato o non randomizzato o se sono stati impiegati studi di coorte o serie temporali.

- Type I: ottenuto da almeno uno studio randomizzato controllato opportunamente disegnato;
- Type II-1: ottenuto da uno studio controllato ben disegnato, ma non randomizzato;
- Type II-2: ottenuto da studi analitici di coorte ben disegnati o da case-control, preferibilmente da più di un centro o gruppo di ricerca;
- Type II-3: ottenuto da serie multiple temporali con o senza interventi. Risultati rilevanti anche se ottenuti da esperimenti non controllati possono essere presi in considerazione come prova di evidenza;
- Type III: opinioni di autorità competenti e riconosciute, basate sull'esperienza clinica, su studi descrittivi, o report di comitati di esperti.

Evidence level	Evidence quality
Type I	Obtained from at least one properly designed randomized controlled trial
Type II-1	Obtained from a well-designed controlled trials without randomization
Type II-2	Obtained from well-designed cohort or case-control analytic studies, preferably from more than one center or research group
Type II-3	Obtained from multiple time series with or without the intervention. Dramatic results in uncontrolled experiments could also be regarded as this type of evidence
Type III	Opinions of respected authorities, based on clinical experience, descriptive studies, or reports of expert committees

Gradi di raccomandazione

La metodologia impiegata nella preparazione dei gradi di raccomandazione si è ispirata a quella utilizzata dalla Consensus Conference dell'American College of Chest Physicians del 2004.⁵⁷ Le raccomandazioni seguono il sistema di classificazione per gradi, espressi in numeri arabi (1, 2) in funzione della forza, e in lettere (A, B, C) in funzione dell'evidenza emersa e del tipo di studi.

Viene usato il verbo “raccomandare” per i gradi più alti (1A, 1C+, 1B, 1C), e il verbo “suggerire” per i gradi più deboli (2A, 2C+, 2B e 2C).

In generale, ogni raccomandazione diversa dal Grado 1A presuppone che gli autori riconoscono che altre interpretazioni dell'evidenza disponibile e altre “clinical policies” possono essere ragionevolmente appropriate. Inoltre, anche le raccomandazioni di Grado 1A possono non essere applicabili indiscriminatamente in ogni circostanza e in ogni paziente. La classificazione convenzionale dell'evidenza si fonda su criteri matematico-statistici, assegnando la “forza” dell'evidenza, nell'ordine, a: metanalisi, studi sperimentali randomizzati controllati, analisi retrospettive, follow-up prospettico, studi trasversali di popolazione, rassegne e evidenza aneddotica. Ciò è corretto per quanto riguarda gli studi di natura rigorosamente clinica, soprattutto se focalizzati su valutazioni obiettive di esito, in particolare per gli studi di tipo terapeutico.

Recommendation	Description	Methodological quality of supporting evidence	Implications
Grade 1A	Strong recommendation, high-quality evidence	RCTs without important limitations or overwhelming evidence from observational studies	Strong recommendation, can apply to most patients in most circumstances without reservation
Grade 1B	Strong recommendation, moderate quality evidence	RCTs with important limitations (inconsistent results, methodological flaws, indirect, or imprecise) or exceptionally strong evidence from observational studies	Strong recommendation, can apply to most patients in most circumstances without reservation
Grade 1C	Strong recommendation, low-quality or very low-quality evidence	Observational studies or case series	Strong recommendation but may change when higher quality evidence becomes available
Grade 2A	Weak recommendation, high quality evidence	RCTs without important limitations or overwhelming evidence from observational studies	Weak recommendation, best action may differ depending on circumstances or patients' or societal values
Grade 2B	Weak recommendation, moderate-quality evidence	RCTs with important limitations (inconsistent results, methodological flaws, indirect, or imprecise) or exceptionally strong evidence from observational studies	Weak recommendation, best action may differ depending on circumstances or patients' or societal values
Grade 2C	Weak recommendation, low-quality or very low-quality evidence	Observational studies or case series	Very weak recommendations; other alternatives may be equally reasonable

Indicazioni dell'ASFA all'impiego della Fotoferesi

Secondo le linee guida della “American Society for Apheresis” la fotoferesi è utilizzabile nelle seguenti patologie:

1. Rigetto di allotrapianto cardiaco:
 - a. Per la profilassi (Categoria I, Grado di raccomandazione 1A)
 - b. Per il trattamento del rigetto (Categoria II, Grado di raccomandazione 1B)
2. Nel linfoma cutaneo a cellule T, nella micosi fungoide, nella sindrome di Sezary:
 - a. Per il trattamento delle manifestazioni cutanee eritrodermiche (Categoria I, Grado di raccomandazione 1B)
 - b. Per il trattamento delle manifestazioni cutanee non eritrodermiche (Categoria III, Grado di raccomandazione 2C)
3. Nella Graft-versus-host disease:
 - a. Nelle manifestazioni cutanee nella GvHD cronica (Categoria II, Grado di raccomandazione 1B)
 - b. Nelle manifestazioni cutanee nella GvHD acuta (Categoria II, Grado di raccomandazione 2C)
 - c. Nelle manifestazioni non cutanee sia nella GvHD cronica che in quella acuta (Categoria III, Grado di raccomandazione 2C)
 - d. Nel rigetto di allotrapianto di polmone (Categoria II, Grado di raccomandazione 1C)
4. Nella Fibrosi sistemica nefrogenica (Categoria III, Grado di raccomandazione 2C)
5. Nel Pemfigo vulgaris (Categoria III, Grado di raccomandazione 2C)

6. Nella Sclerodermia (sclerosi sistemica progressiva) (Categoria VI, Grado di raccomandazione 1A)

Indicazioni della Sidem e della Gitmo all'impiego della Fotoferesi

Anche la SIdEM (Società Italiana di Emaferesi e Manipolazione cellulare) e la GITMO (Gruppo Italiano Trapianto Midollo Osseo) hanno pubblicato da poco delle raccomandazioni per l'impiego della Fotoferesi extracorporea in caso di Graft versus Host Disease, analizzando solo studi che hanno visto arruolati più di 10 pazienti. Rilevante l'aiuto dell'ECP nell'adulto ma anche nel bambino, sia nella GVHD acuta che cronica, sia nel ridurre le dosi terapeutiche degli immunosoppressori, permettendo un miglioramento della qualità di vita dei pazienti. Sono stati affrontati anche argomenti importanti come le controindicazioni ematologiche e non all'impiego della fotoferesi (vedi capitolo "La fotoferesi").⁵⁸

La procedura fotoferetica nel trapianto di fegato non viene contemplata nelle linee guida ASFA, GITMO e SIdEM, anche se i dati a questo proposito provenienti da pochissimi centri sono molto incoraggianti.

Macchinari impiegati

Sistemi On-Line

Per quanto riguarda il sistema on-line, ossia completamente automatizzato, la compagnia Therakos si è occupata di svilupparne le potenzialità sin dalla comparsa del primo macchinario fotoferetico.

Il sistema UVAR TM (Therakos, Ascot, UK) per ECP venne approvato dalla Food and Drugs Administration nel 1988. Il metossipsoralene veniva ingerito oralmente diverse ore prima del trattamento, con gravi effetti collaterali.

Alla fine del 1990 è stata sviluppata una procedura che permettesse una fotosensibilizzazione extracorporea (UVADEX TM) tramite iniezione del metossipsoralene direttamente nel buffy-coat prima dell'irradiazione con raggi UVA, evitando le tossicità sistemiche degli psoraleni orali. L'approvazione iniziale per questo prodotto (appositamente progettato per essere utilizzato come parte del sistema di seconda generazione UVAR XTS TM, Therakos) è stata concessa nel 1999. Il sistema UVAR XTS ha in gran parte sostituito il sistema UVAR TM ed è un sistema chiuso disponibile in commercio per fotoferesi extracorporea.

Una macchina di terza generazione ma ancora poco diffusa (CellEx TM, Therakos) permette una raccolta di buffy-coat più consistente, riducendo i tempi di trattamento da 4 ore a meno di una.

Therakos UVAR XTS™

Lo strumento UVAR XTS™ è stato concepito per essere completamente automatizzato. Esso seleziona automaticamente il concentrato leucocitario, senza l'intervento dell'operatore, infermiera e/o medico, pur dovendo comunque controllare il processo può dedicare più tempo al paziente.

Il separatore è dotato principalmente di un monitor che mostra i dettagli del trattamento, attraverso il quale l'operatore interagisce con lo strumento. Il tasto dati registra tutto ciò che si verifica durante un trattamento, compresi allarmi o qualsiasi modifica che si verifichi durante la procedura. In caso di problemi tecnici, in questa maniera, Therakos è in grado di intervenire direttamente sul problema verificatosi.

Per effettuare il riempimento delle linee del separatore sono usate due tipi di liquidi, l'anticoagulante la cui sacca viene appesa sul gancio sinistro e la soluzione salina la cui sacca viene posizionata sul gancio destro. Il gancio centrale serve per la sacca del plasma/ritorno.

Non occorre aggiungere un filtro ematico esterno prima di reinfondere il prodotto al paziente, eccetto quando si reinfonde il prodotto manualmente. Nel corpo macchina è presente un compartimento in cui è alloggiata la centrifuga, e dove è presente un sensore umidità che rileva eventuali perdite dalla centrifuga del kit.

Un sensore ottico rileva l'interfaccia globuli rossi/concentrato leucocitario, ossia la posizione corretta della frazione ematica arricchita di leucociti nel recipiente prima di avviare la raccolta del concentrato.

Il sensore per l'ematocrito automatico utilizza un filtro per rivelare un cambiamento nella trasmittanza pari al 24% dell'ematocrito. Quando la quantità di globuli rossi stabilita passa attraverso il sensore per l'ematocrito creando la stessa tonalità di oscurità del 24% di ematocrito, il sensore per l'ematocrito interromperà la raccolta del concentrato leucocitario.

La camera di fotoattivazione è costituita da:

- Set di 2 lampade con 150 ore di autonomia, da sostituire contemporaneamente. Queste lampade forniscono la fonte di energia UVA erogata durante la fotoattivazione.
- Due lastre di vetro o cornici della lampada.
- Sensori di allarme sul coperchio magnetico che consentono allo strumento di rivelare se il coperchio è aperto o chiuso. Nel caso in cui venisse rilevata l'apertura del coperchio mentre le lampade sono accese, il circuito si interromperebbe, le lampade si spegnerebbero e suonerebbe un allarme. La crema leucocitica/volume di trattamento raccolto durante ogni ciclo rimane nel modulo di fotoattivazione del kit nella camera di fotoattivazione. Quando il modulo è pieno, la crema leucocitica scorre nella sacca di circolazione continua, appesa al gancio destro.



Il sistema UVAR® XTS™ è un sistema a flusso discontinuo, cioè attraverso un solo accesso venoso vengono effettuati in tempi diversi sia la procedura di prelievo che quella di re infusione. Diversamente dagli strumenti a flusso continuo, non restituisce quindi il volume al paziente fino al termine di ogni ciclo di raccolta. Ciò significa che la raccolta del concentrato linfocitario deve essere eseguita in fasi o cicli ripetuti con piccoli volumi.

Therakos produce due diversi kit procedurali. Ogni kit contiene un recipiente della centrifuga di diverse dimensioni: 225 mL (codice prodotto: XT001) e 125 mL (codice prodotto: XT125). Esternamente le dimensioni di entrambi i recipienti sono le stesse, ma la sezione di plastica al centro del recipiente da 125 mL è più larga, creando una camera di sviluppo più piccola. Poiché sono necessari meno globuli rossi per riempire il recipiente piccolo (125 ml), viene prelevato un volume extracorporeo (ECV) minore dal paziente durante ogni ciclo di raccolta. Ogni kit offre la stessa terapia, ma il trattamento con il recipiente grande è costituito da 3 cicli, mentre quello con il

recipiente piccolo è costituito da 6 cicli. Pertanto, il tempo complessivo della terapia è inferiore se si utilizza il recipiente grande. Inoltre, il sangue intero ha un tempo di permanenza maggiore nel recipiente della centrifuga da 225 mL. Le dimensioni del kit utilizzato dipendono dall'ematocrito del paziente, dalla corporatura, dal peso, dal sesso e dall'anamnesi medica. Per ridurre al minimo il volume extracorporeo è possibile diminuire il numero di cicli laddove fosse necessario⁵⁹.

Ultimo arrivato sul mercato è il THERAKOS™ CELLEX® Photopheresis System con aspetto del corpo macchina decisamente più compatto, permette procedure più brevi, in alcuni casi dimezza i tempi che possono passare dalle 3 ore all'ora e mezza. Il volume sanguigno extracorporeo di cui necessita è inferiore rispetto ai modelli precedenti. Inoltre vi è la possibilità di scegliere se utilizzare l'ago singolo o doppio.

Sistemi Off-Line

Per quanto riguarda i sistemi off-line, che usano il cosiddetto metodo francese, vengono utilizzati due tipi di macchinari: un separatore cellulare per la prima fase della procedura, ossia per la raccolta del buffy-coat, e un macchinario fotoattivatore che permette l'esposizione del concentrato cellulare raccolto alle radiazioni UVA successivamente all'aggiunta dello Psoralene (8-MOP) fotosensibilizzante.

I separatori cellulari a disposizione del nostro centro sono:

1. COBE® Spectra Apheresis System,
2. OPTIA® Spectra Apheresis System.

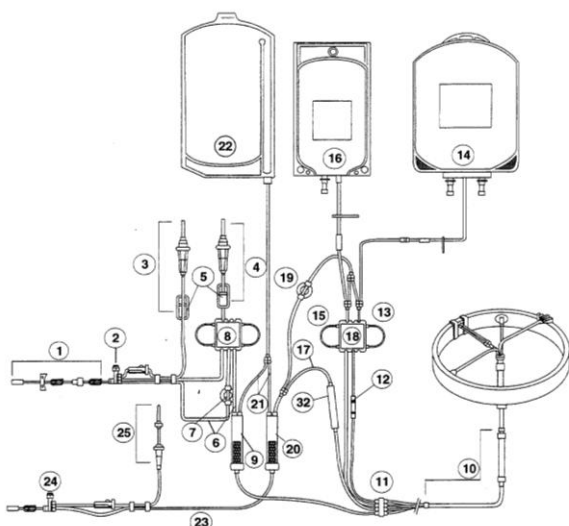
Separatori cellulari

COBE® Spectra Apheresis System

Il Sistema di aferesi COBE è un separatore cellulare che attraverso un flusso continuo può essere impiegato sia per il donatore sia per il paziente. Il sistema viene preparato seguendo lo schema di montaggio del circuito presente su una mascherina per ogni procedura con dei kit monouso comprendenti:

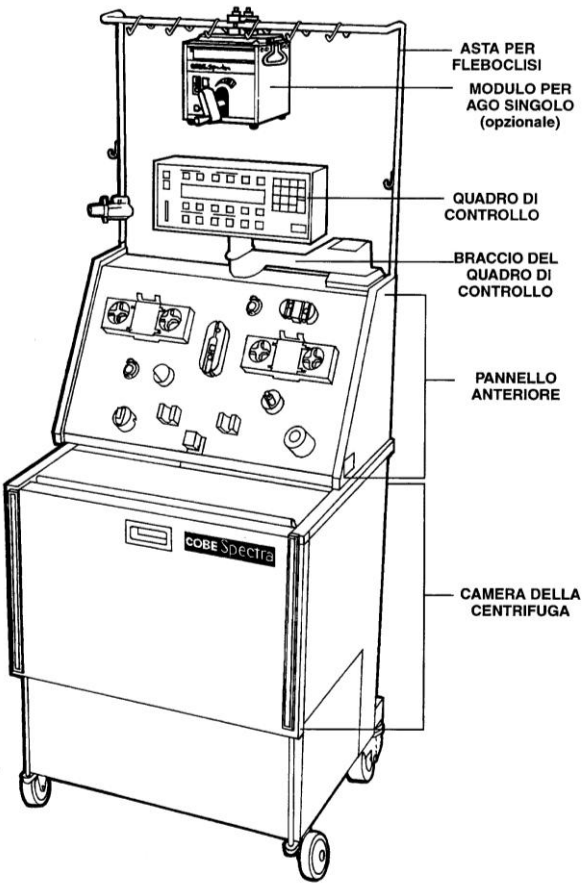
- una cintura di separazione, che collocata nella centrifuga separa i componenti del sangue,
- dei tubi, che prelevando il sangue dal donatore/paziente lo convogliano nel circuito e quindi nella centrifuga,
- i liquidi (soluzione fisiologica ed anti-coagulante).

Il Sistema di aferesi Spectra è un separatore automatico a flusso continuo che separa le cellule ematiche tramite una centrifuga e offre le funzioni necessarie per controllare e monitorare il circuito extracorporeo durante le procedure di aferesi.



Circuito Cobe Spectra AutoPBSC

In figura è mostrata una vista complessiva dell'esterno del Sistema di aferesi Cobe Spectra, privo sia di dispositivi monouso, sia di mascherina del circuito, che dei liquidi.



Il Sistema di aferesi Spectra usa un metodo a centrifuga per separare il sangue intero nei suoi componenti principali: eritrociti, leucociti, trombociti e plasma. Il sangue intero viene prelevato dal paziente, anti-coagulato, pompato nella centrifuga e separato in componenti. Il componente rimosso viene raccolto e concentrato, mentre gli altri componenti vengono reinfusi al paziente. Il sangue intero anti-coagulato viene pompato nella cintura mentre questa ruota in senso orario nella centrifuga.

Il Sistema di aferesi Spectra funziona in modalità di controllo automatica, caratteristica che prevede la definizione automatica dei valori iniziali di velocità delle pompe e della centrifuga. In questa

modalità è possibile mettere a punto la portata della pompa di prelievo mantenendo automaticamente il rapporto di diluizione (tra sangue intero più anticoagulante ad anticoagulante), le appropriate portate di plasma, raccolta e sostituzione e la corretta velocità della centrifuga.

L'anticoagulazione è necessaria per prevenire la coagulazione nel circuito extracorporeo. L'ACD-A è l'anticoagulante approvato per il sistema di aferesi COBE ai fini delle procedure. Il principio attivo è una miscela di sodio citrato, acido citrico e destrosio. La principale funzione anticoagulante è svolta dal citrato che inibisce le reazioni calcio-dipendenti che costituiscono il processo "a cascata" della coagulazione. Il sistema Cobe Spectra controlla la portata della pompa AC in modo da stabilire la velocità con la quale l'anticoagulante viene reinfuso al paziente. È da tenere presente che l'uso dell'ACD quale anticoagulante per l'aferesi può causare una ipocalcemia sintomatica in alcuni pazienti. Le forme lievi di questa condizione si manifestano generalmente sotto forma di freddo e o parestesia periferica, sensazioni di formicolio localizzate nelle estremità e/o irrequietezza. Le forme gravi di questa condizione possono manifestarsi sotto forma di significativa disfunzione cardiaca. Per questo motivo può essere utili mettere del calcio gluconato in infusione continua o fare dei puff.

Il sistema Cobe Spectra richiede informazioni sul sesso, l'altezza, il peso del paziente per determinare il volume totale di sangue, che costituisce l'unità di misura adottata dal sistema per le "dimensioni" del paziente. Usando la velocità configurata di infusione di ACD-A (ml di AC/min/litri di volume totale di sangue) nel paziente, il sistema Spectra passa poi a calcolare la quantità di anticoagulante rimosso assieme al plasma ed imposta la portata della pompa dell'ACD appropriata alle dimensioni del donatore o paziente.⁶⁰

OPTIA® Spectra Apheresis System

La Spectra Optia Apheresis System, basato sul sistema Spectra COBE, è una piattaforma di nuova generazione. Per la centrifugazione utilizza un flusso continuo centrifugazione, anche qui troviamo un sistema automatizzato per la sicurezza del paziente. Intuitivo e facile da usare, permette una formazione degli operatori semplificata in quanto gli stessi kit sono utilizzabili per procedure differenti.

Sistemi di fotoattivazione: il sistema UVA PIT

Il processo di fotoattivazione viene eseguito attraverso il sistema UVA PIT. L'irradiazione viene realizzata distribuendo l'energia di raggi UVA al buffy-coat precedentemente raccolto in proporzione all'ematocrito del concentrato stesso, mantenendolo in continuo movimento per evitare l'agglutinamento delle cellule e l'effetto schermante delle stesse e dei globuli rossi presenti. Tali caratteristiche permettono quindi di effettuare una consistente, efficace ed omogenea irradiazione di tutte le cellule presenti.

Le sue principali caratteristiche tecniche sono:

- Sei lampade con doppio tubo a raggi UVA ad alta intensità e lunga vita (1000 trattamenti circa),
- Quantità di raggi UVA realmente emessi, a garanzia di un efficace e riproducibile risultato,
- Sicuro e facile accesso alla camera di fotoattivazione,

- Circuito di irradiazione con larga superficie e con omogeneo spessore per garantirne una efficace esposizione ai raggi UVA,
- Pompa peristaltica “soft” per ridurre lo stress cellulare ed il rischio di emolisi,
- Sistema di raffreddamento con ventole ad alto rendimento per un continuo, accurato e sicuro controllo delle temperature,
- Unità di controllo per l’inserimento dei dati di base di semplice programmazione (volume ed ematocrito),
- Display interattivo per visualizzare le varie fasi della procedura ed i parametri essenziali quali la quantità di energia che verrà emessa (espressa in Joules) e la temperatura interna della camera di irradiazione (espressa in °C),
- Tempi di trattamento ridotti,
- Utilizzabile con piccoli e grandi volumi di buffy-coat indipendentemente dal tipo di paziente.⁶¹

Il trapianto di fegato⁶²

Introduzione

Ci sono varie patologie che conducono ad insufficienza epatica acuta o cronica nelle quali non c'è possibilità di ripristinare la funzione primitiva epatica. Le principali sono rappresentate dall'infezione da virus dell'epatite C e dall'epatocarcinoma, ma sono molto frequenti anche l'epatite acuta fulminante, la cirrosi post-epatitica, la cirrosi biliare primitiva, la cirrosi alcolica, la colangite sclerosante primitiva, gli errori congeniti del metabolismo, la sindrome di Budd-Chiari. In tutti questi casi c'è l'indicazione al trapianto ortotopico di fegato (TOF).

Successivamente al trapianto, i pazienti dovranno sottoporsi ad importanti terapie immunosoppressive contro il rigetto dell'organo trapiantato. I farmaci d'elezione sono stati per molto tempo i farmaci anti-linfocitari e gli anti-proliferanti. Nel caso però di pazienti sottoposti al trapianto ma affetti contemporaneamente da epatite C fino a pochi anni fa non era possibile abbinare la terapia antivirale con Interferon Alfa e Ribavirina. Questi problemi venivano complicati ulteriormente dalla ridotta disponibilità di organi, che ultimamente si è cercato di fronteggiare con l'utilizzo di donatori di età superiore ai 60 anni, creando la cosiddetta categoria degli extended criteria donor (ECD), una categoria di donatori le cui caratteristiche possono potenzialmente predisporre il ricevente ad un aumentato rischio - sia a breve che a lungo termine - di disfunzione d'organo e di trasmissione di malattie. L'età avanzata del donatore rappresenta uno dei principali fattori che influenzano l'outcome del trapianto epatico e che definiscono un donatore come ECD.

Negli ultimi anni è stata utilizzata, una nuova forma di terapia, la fotochemioterapia extracorporea (ECP), soprattutto come supporto antirigetto (Graft vs host disease).

Nonostante i differenti approcci terapeutici, i pazienti trapiantati sono esposti ad una serie di complicanze insite in un intervento di chirurgia maggiore, oltre alle complicazioni mediche che vanno dall'insufficienza primaria d'organo, a complicanze polmonari, cardiovascolari, infettive, per non parlare di tutti i problemi connessi alle massicce terapie immunosoppressive.

Per questo motivo è sorta la necessità di cercare di ridurre i rischi connessi al trapianto, anche attraverso un miglioramento del management dei farmaci antirigetto o delle tecniche terapeutiche adiuvanti.

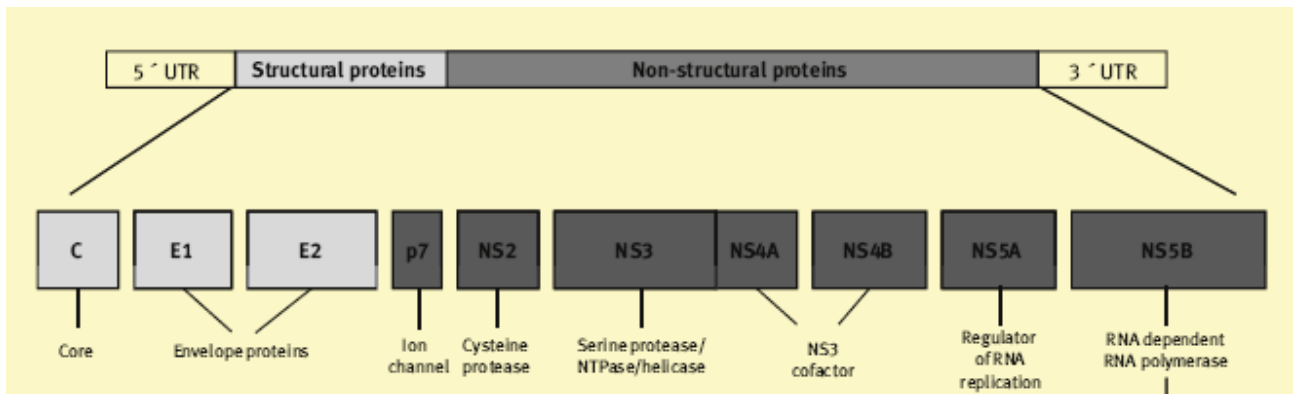
Cause

Le patologie che conducono ad insufficienza di organo sono varie.

Infezione da HCV

L'infezione dell'epatite C infetta solo gli uomini e gli altri primati e nell'uomo è la principale causa di epatite cronica. L'infezione acuta è di solito asintomatica, la maggior parte dei pazienti non sanno di avere contratto il virus. Alcuni pazienti eliminano il virus spontaneamente, ma la maggior parte diventano portatori cronici, che si stima siano 185 milioni, ossia circa il 3% della popolazione mondiale⁶³. Solo nel 30% dei casi si ha persistenza virale associata ad elevata attività replicativa che porta allo sviluppo di cirrosi in 10-30 anni con possibile evoluzione in epatocarcinoma, proprio a causa dello spiccato tropismo dell'HCV per l'epatocita.

Il virus dell'epatite C si trasmette per via parenterale (trasfusioni di sangue o emoderivati) o per via percutanea, modalità che ha maggiormente contribuito alla diffusione dell'infezione su ampia. Ciò è avvenuto prevalentemente negli anni '60-'70, quando si sono diffuse sul territorio chirurgia ambulatoriale, cure odontoiatriche, agopuntura, etc., con l'uso di strumenti non perfettamente sterilizzati e impiegati consecutivamente per più pazienti.



HCV è un virus capsulato della famiglia Flaviviridae con sei genotipi principali e più di 50 sottotipi⁶⁴, che non differiscono in modo significativo nella virulenza, ma invece sono predittivi di diversa risposta al trattamento; per esempio il genotipo 2 e il 3 rispondono meglio⁶⁵. Il genoma virale è costituito da un filamento singolo di RNA lungo 9.6 kilobasi, costituito da regioni non tradotte alle estremità 5' e 3' (UTRs) che includono elementi di controllo richiesti per la traduzione e la replicazione. Le regioni UTRs fiancheggiano un unico Open Reading Frame (ORF) codificante una singola poliproteina di 3010 o 3011 aminoacidi, che viene processata in sub-unità strutturali (C, E1, E2, e p7) e non strutturali (NS2, NS3, NS4A, NS4B, e NS5B) dall'ospite e da proteasi virali (Figura)⁶⁶. L'RNA polimerasi virale RNA-dipendente manca di capacità di controllo della lettura, consentendo la generazione di molti virus mutanti.⁶⁷ Questa diversità contribuisce alla capacità del virus di evadere la risposta immunitaria dell'ospite e pone sfide per lo sviluppo di un vaccino efficace.

Il ciclo vitale dell'HCV è citoplasmatico, l'RNA virale non entra nel nucleo. La replicazione avviene in un compartimento dotato di membrana e determina la formazione di RNA intermedi (dsRNA) a doppia catena. Gli intermedi di replicazione inducono forti risposte cellulari innate in seguito all'infezione. L'HCV non uccide le cellule infettate ma innesca una risposta infiammatoria immuno-mediata (epatite) che può eliminare l'infezione o più frequentemente sovverte l'architettura del fegato, determinando lo sviluppo di cirrosi che può evolvere in lesioni focali attive e quindi in carcinoma epatocellulare.⁶⁸

La comprensione dei meccanismi immunologici alla base dell'infezione da HCV risulta utile sia per stabilire il grado di suscettibilità dell'ospite, sia per lo studio del quadro immunologico che si instaura nel post-trapianto.

Un importante contributo deriva da studi prospettici riguardanti le risposte immunitarie HCV-specifiche in scimpanzé sperimentalmente infettati con HCV. Gli scimpanzé che riescono a risolvere spontaneamente l'infezione e a guarire dall'epatite sviluppano una risposta sostenuta da

linfociti T citotossici a fenotipo CD8+ di elevata intensità e diretta verso numerose sequenze aminoacidiche (epitopi) di HCV. Tale risposta è dimostrabile precocemente dopo l'infezione. All'opposto, gli animali in cui l'infezione evolve cronicamente mostrano risposte citotossiche significativamente più deboli, soprattutto nelle fasi molto precoci dell'infezione. L'intensa ed efficiente risposta T citotossica associata alla capacità di controllare l'infezione contrasta con una risposta anticorpale debole, evidenziabile nella fase acuta dell'infezione in questo modello animale.⁶⁹ Questi dati suggerirebbero quindi che siano le risposte T citotossiche antivirali ad avere un ruolo nelle fasi precoci dell'infezione, piuttosto che una risposta di tipo anticorpale.^{70, 71, 72}

Nel corso dell'infezione, i linfociti T CD8+ (ristretti per HLA di classe I) e CD4+ (ristretti per HLA di classe II) continuano a circolare e ad essere dimostrabili per decenni dopo la risoluzione dell'epatite acuta, anche in assenza di apparente riesposizione al virus.^{73, 74} Le caratteristiche delle risposte sostenute da tali linfociti indicano che si tratta di cellule effettrici, piuttosto che di linfociti memoria quiescenti, continuamente stimolati da piccole quantità di antigeni virali che persistono anche dopo la risoluzione dell'epatite. Questa osservazione suggerisce pertanto che la risoluzione clinica di un'epatite acuta C non implica necessariamente eradicazione dell'infezione, ma piuttosto capacità del sistema immune di tenere sotto costante controllo piccole quantità di virus che probabilmente persistono indefinitamente nel paziente guarito.

Un'osservazione sorprendente è che le risposte T linfocitarie CD4-mediate risultano più intense in un'alta percentuale di pazienti con epatite cronica C di lunga durata, rispetto a quanto si osserva nella fase acuta dell'infezione nei pazienti che successivamente sviluppano un'epatite cronica.^{75, 76} Questo potrebbe suggerire che le risposte diventano progressivamente più intense in funzione della durata dell'infezione.

In un'elevata percentuale di pazienti cronici le risposte CD4-mediate sono policlonali e multispecifiche, anche se in una parte di essi le risposte CD4 sono totalmente assenti a livello dei linfociti del sangue circolante.

Esiste una chiara gerarchia riguardo alla capacità stimolatoria delle diverse proteine di HCV per i linfociti CD4, in quanto core ed NS4 risultano gli antigeni più frequentemente riconosciuti, mentre le proteine dell'envelope virale e le proteine non strutturali NS3 ed NS5 risultano riconosciute da una minore percentuale di pazienti.

Anche le risposte CD8-mediate sono facilmente dimostrabili nel sangue di una elevata percentuale di soggetti con infezione cronica.

Nei pazienti con infezione cronica da HCV, linfociti T CD4 e CD8 HCV-specifici sono dimostrabili all'interno del fegato, dove sono sequestrati a causa del processo infiammatorio che comporta la produzione cronica di antigeni virali.^{77, 78, 79, 80, 81, 82, 83}

Le convenzionali terapie antivirali sono state revisionate anche durante la Consensus Conference Europea su "Epatite C", organizzata dalla Associazione Europea per lo Studio del Fegato a Parigi nel Febbraio 1999, che ha definito le linee guida per il trattamento della infezione cronica e delle forme cliniche associate.⁸⁴

Cause neoplastiche

Il cancro al fegato è il quinto tumore più comune nel mondo. Nel 1990 sono stati diagnosticati 437.000 nuovi casi in tutto il mondo, pari al 5,4% di tutti i nuovi casi di tumore. La mortalità attribuibile al cancro al fegato è stata stimata essere di 427.000 persone per anno, 8.2% di tutte le morti per cancro.⁸⁵

Il tumore del fegato è un'altra patologia che inducendo insufficienza epatica risulta essere un criterio di inclusione nella lista per il trapianto di fegato. Tra i tumori al fegato il più importante è l'epatocarcinoma che rappresenta oltre il 90% dei casi.

La maggior parte degli epatocarcinomi insorge come complicanza a lungo termine di epatiti croniche e cirrosi correlate all'infezione cronica da virus B e C dell'epatite.⁸⁶ Circa il 70% dei pazienti con HCC è infatti portatore di infezione da HCV o HBV. La cirrosi epatica, per il coesistere di necrosi, infiammazione e rigenerazione, rappresenta un fattore di rischio indipendente per l'insorgenza del carcinoma epatocellulare e viene ritenuta un fattore importante per l'acquisizione delle alterazioni genetiche che precedono o accompagnano lo sviluppo della neoplasia. L'HCC si associa infatti ad un'ampia varietà di alterazioni cromosomiche, che vanno dai riarrangiamenti genomici legati all'integrazione dell'HBVDNA, alla perdita di eterozigosi (perdita di un allele) in numerosi loci su un ampio numero di cromosomi, ad amplificazioni geniche (aumento del numero di alleli). Nonostante l'incremento delle ricerche riguardanti l'eziopatogenesi dell'HCC, non è ancora del tutto chiaro il modo con cui agiscono i diversi fattori di rischio, con cui questi contribuiscono alla carcinogenesi epatica, e soprattutto come cooperano l'uno con l'altro a livello molecolare. Un aspetto fondamentale resta ancora quello di definire se e come, oltre che attraverso l'induzione di un processo infiammatorio cronico e della cirrosi, i virus epatitici possano contribuire direttamente alla trasformazione neoplastica dell'epatocita.

L'incidenza dell'HCC è in crescita in molte aree del mondo e tale aumento è stato messo in relazione alla diffusione dell'infezione HCV.^{87,88} Negli studi italiani l'infezione da HCV e da HBV sono entrambe fortemente associate all'insorgenza dell'HCC e la frazione attribuibile all'HCV risulta essere del 44%, con un rischio attribuibile all'HBV del 20%.^{89,90,91,92} L'associazione tra infezione HCV ed HCC è confermata, come per il virus HBV, da numerosi studi di coorte e da oltre 20 studi caso-controllo, con un rischio relativo superiore a 10.

Le stime disponibili sul rischio di HCC associato all'infezione da HCV sono state ottenute in studi prospettici condotti o in pazienti con epatite post-trasfusionale, in cui l'inizio dell'infezione è certo, o in pazienti con epatite cronica o cirrosi compensata, in cui però l'epoca dell'infezione non può essere dedotta sempre con precisione. L'insorgenza dell'HCC nei primi 10-15 anni dopo l'infezione è comunque un evento estremamente raro e il rischio si concentra nei pazienti che hanno già sviluppato una cirrosi, anche se vi sono segnalazioni di HCC insorti in pazienti non cirrotici con infezione HCV.^{93,94}

La storia naturale dell'HCC e la prognosi sono strettamente condizionate dalla dimensione iniziale del nodulo, dalla mono o plurifocalità delle lesioni al momento della diagnosi, dal tasso di crescita e, soprattutto, dallo stadio funzionale della cirrosi associata.

L'analisi del DNA genomico tumorale in casi di HCC multifocale ha permesso di dimostrare che in circa il 50% dei casi le lesioni originavano verosimilmente in modo autonomo da diversi cloni

epatocitari⁹⁵. Il pattern multinodulare tende ad essere più frequente nei pazienti con fattori etiologici multipli rispetto ai pazienti con infezione HCV,⁹⁶

Le possibili terapie sono legate alla presenza di un'epatopatia cronica. Nei pazienti con fegato conservato prima di una resezione parziale viene presa in considerazione l'embolizzazione portale.

La resezione epatica è stata la prima terapia ad essere usata nell'HCC. È indicata per i pazienti con noduli singoli, in classe di Child A5, A6 e B7.⁹⁷ L'ipertensione portale deve essere assente o minima. I vantaggi risiedono nell'asportazione completa del tumore e del tessuto circostante, mentre gli svantaggi risiedono nella possibilità di insorgenza di insufficienza epatica dopo l'intervento e nella possibilità che si riformino altri noduli nel fegato con il tempo. I risultati oggi comportano un rischio operatorio intorno all'1% ed una sopravvivenza dei pazienti dopo 5 anni dell'intervento del 50%.

In alternativa alla resezione sono state sviluppate altre tecniche quali la rimozione con alcolizzazione o radiofrequenza, che prevedono la distruzione del tumore mediante iniezione di alcool assoluto o calore portati dentro il fegato da aghi o sonde introdotte attraverso la parete addominale. Hanno indicazioni simili alla chirurgia, includendo però anche quei pazienti che non possono essere operati o non vogliono sottoporsi ad intervento chirurgico. I vantaggi risiedono nell'evitare l'intervento, gli svantaggi consistono nella mancata certezza della distruzione di tutto il tumore e nella necessità di dover eseguire più sedute, ma soprattutto nella possibilità di comparsa di nuovi noduli.

Il trapianto di fegato è in teoria la terapia più efficace, perché permette di rimuovere sia il tumore che il fegato cirrotico. Purtroppo la cronica carenza di donatori non consente di poter candidare al trapianto tutti i pazienti con epatocarcinoma. Inoltre, i risultati peggiorano quanto più grande è il tumore, il che esclude un discreto numero di pazienti.

Epatite acuta fulminante

L'epatite acuta fulminante è un'indicazione al trapianto urgente in quanto la percentuale di successo è superiore alla sopravvivenza con il solo trattamento conservativo^{98,99,100}. A seconda dell'eziologia dell'epatite (virus B, virus C, farmaci, ecc.) la sopravvivenza senza trapianto varia dal 20% all'80% ed è quindi fondamentale stabilire la diagnosi tempestivamente per poter selezionare il paziente più a rischio.¹⁰¹

Una causa abbastanza frequente di epatite acuta fulminante è l'intossicazione da funghi. Quelle "vere", chiamate più propriamente micetismi, sono causate da quei funghi che contengono sempre, e già allo stato fresco, concentrazioni più o meno elevate di sostanze tossiche per l'uomo. E ciò per sgombrare subito il campo da quelle "false" che, pur rappresentando in Italia la maggior parte delle intossicazioni legate al consumo dei funghi (quasi il 65%), in realtà non sono dovute al consumo di funghi velenosi, ma di funghi appartenenti a specie di per sé commestibili, divenuti tossici in determinate situazioni.

In base al tempo che intercorre tra l'ingestione dei funghi e la comparsa dei sintomi, le intossicazioni da funghi vengono suddivise in sindromi a lunga latenza (da circa 6 a 24 ore dal pasto, potenzialmente gravi e mortali in alcuni casi) e sindromi a breve latenza (da pochi minuti fino ad un massimo di 4-6 ore dal pasto, a decorso benigno nella maggior parte dei casi). Esse rappresentano oltre l'80% dei micetismi osservati.

Le intossicazioni “vere”, vengono classificate in sindromi che, generalmente, prendono il nome dalla tossina responsabile contenuta nel fungo. Negli altri casi, solitamente quando la tossina responsabile non è ancora stata isolata o certa, si preferisce riferire la sindrome allo specifico quadro clinico provocato o alla specie fungina responsabile. Le intossicazioni “false”, invece, non determinando quadri clinici specifici, rientrano tutte quante in una generica “Sindrome gastroenterica” che può essere quindi espressione sia di “vera” che di “falsa” intossicazione da funghi.

La sindrome falloidea ha rappresentato nell'arco degli anni l'avvelenamento da funghi con più frequente esito mortale. Attualmente il tasso di mortalità è sceso significativamente attestandosi, quando i casi sono trattati appropriatamente ed in tempo utile, al 10% del totale. Le tossine responsabili sono generalmente divise in tre gruppi: amatossine, fallotossine, virotossine. Solo quelle relative al primo gruppo (amatossine) sono le vere tossine responsabili di questa sindrome che, per comodità, si continua ancora a definire "falloidea". In passato si parlava di "Sindrome falloidea" (provocata solamente da alcune specie fungine appartenenti al genere *Amanita*) e di "Sindrome parafalloidea" (provocata da specie appartenenti ad altri generi fungini). Considerato che le tossine responsabili sono identiche ed i quadri clinici perfettamente sovrapponibili, oggi si preferisce considerare un'unica sindrome falloidea che le comprende entrambi.

Il quadro clinico è classicamente costituito di 4 fasi:

- 1) *periodo di latenza*: i disturbi compaiono dopo una latenza di 6 - 24 ore (10-12 ore in media). La lunga latenza dipende dal fatto che le amatossine non agiscono direttamente sulle cellule enteriche dal lato del lume intestinale, ma solo dal lato vascolare delle medesime dove giungono per via ematica solo in un secondo tempo.
- 2) *fase gastrointestinale*: dolori addominali, sudorazione, vomito incoercibile e diarrea profusa (fase coleriforme) che possono persistere a lungo e con andamento a crisi. In conseguenza di ciò si può verificare una grave disidratazione con ipovolemia che se, non prontamente corretta, può portare ad insufficienza renale acuta (insuff. renale prerenale, non dovuta cioè all'azione diretta sul rene da parte delle amatossine, ma alla grave disidratazione), a shock e, nelle forme più gravi, anche a morte.
- 3) *fase epatica*: si manifesta a partire dalle 24-48 ore (generalmente in 36[°]ora) dal pasto ed è caratterizzata da aumento delle transaminasi fino a superare 10.000 UI/l. L'intossicazione è più severa quando anche le alaninoamminotransferasi (ALT) superano 1.000 UI/l. All'inizio si ha aumento delle transaminasi e della bilirubina e successivamente, fin dalla 48[°] ora, riduzione della glicemia e dell'attività protrombinica. Nelle forme meno gravi si ha una lenta risoluzione, con un miglioramento dei sintomi confermato da una diminuzione degli enzimi (transaminasi) ed aumento dell'attività protrombinica.
- 4) *insufficienza epatica grave*: in genere in 4^a-5^a giornata vi può essere un'ulteriore peggioramento testimoniato dalla persistenza di bassi valori di attività protrombinica e del fattore V di coagulazione, mentre le transaminasi possono talvolta anche diminuire, ma in questo caso sono indici di necrosi epatica massiva con prognosi infausta. L'esito mortale può avvenire per coma epatico con convulsioni ed insufficienza respiratoria; frequentemente vi possono essere emorragie interne (soprattutto intestinali), ipoglicemia, coagulopatia ed insufficienza renale acuta organica.

La prognosi è legata alla gravità dell'epatite. La mortalità è mediamente del 10%, ma il Centro Antiveneni di Milano riferisce solo l'1% di mortalità. Le maggiori percentuali di mortalità sono sicuramente da ascrivere ad una insufficiente o tardiva terapia. La mortalità non è correlata al valore delle transaminasi, ma alla presenza di fattori peggiorativi quali la giovane età (mortalità 2-3 volte più elevate nel bambino), i livelli del fattore V e il tempo di protrombina (quando inferiore al 10%), l'insufficienza renale e l'encefalopatia.

La diagnosi è clinica. A conferma, è possibile oggi identificare l'amanitina urinaria con metodo Elisa (sono sufficienti 1-2 ml di urina prelevati precocemente e preferibilmente prima di iniziare un trattamento di reidratazione). Il limite di rilevamento del test è di 2mg di alfa-amanitina ed è considerato certo quando il valore è >6 mg. Gli studi cinetici dell'alfa- e beta-amanitina nell'uomo hanno dimostrato che le amatossine sono presenti nelle urine e nelle feci a forti concentrazioni (cento volte maggiori rispetto al sangue) ma solamente durante le 24-48 ore susseguenti l'ingestione. Per quanto riguarda la terapia, è di fondamentale importanza ai fini prognostici un precoce intervento di emergenza (entro e non oltre le 30-36 ore dal pasto) di diuresi forzata (1 L ogni 10 Kg di peso nelle 24 ore, più il reintegro delle perdite gastroenteriche) con sorveglianza dei parametri emodinamici ed elettrolitici (ogni 12 ore: glucosio, ALT, AST, AP, PTT, piastrine, urea, creatinina, elettroliti, bicarbonato, ematocrito, CK; ogni 24 ore: bilirubina, calcio, magnesio, emogasanalisi, fattore V; se acidosi valutare acido lattico; monitoraggio frequente: PA, PVC, OUT-PUT urinario, bilancio idroelettrolitico). La diuresi forzata deve essere mantenuta fino a 72-96 ore dall'ingestione con progressiva riduzione dell'apporto di liquidi a partire dalla 4°-5° giornata. L'interruzione del ciclo enteroepatico delle amatossine con la somministrazione ripetuta di carbone attivato (Carbomix, 30g/6 ore per 3-4 giorni attraverso sonda naso-gastrica fin che perdura il vomito o per os) può essere proposta, ma è resa difficile a causa dell'intolleranza digestiva. Tra i numerosi trattamenti "antitossici" proposti, unicamente la penicillina G, con una posologia raccomandata variante da 300.000 a 1 milione UI/kg i.v. (mediamente 40 milioni), tenendo conto che le dosi massicce possono indurre degli effetti neurologici centrali soprattutto nei bambini (la penicillina G farebbe diminuire la penetrazione intracellulare delle amanitine e limitando il loro circolo enteroepatico per competizione a livello della secrezione biliare), e la silimarina iniettabile (epatoprotettore che impedirebbe la penetrazione intracellulare delle amanitine), in ragione di 5 mg/Kg i.v. entro la prima ora poi 20 - 50 mg/<kg i.v./die per i primi 3 giorni di terapia (Legalon® iniettabile), hanno dato alcuni risultati, sia sperimentali che clinici, interessanti. Tuttavia, in assenza di uno studio clinico controllato, l'efficacia di questi trattamenti non è stata stabilita con certezza. Più recentemente, è stata proposta la somministrazione di N-acetil-cisteina (Fluimucil, Mucomyst) la cui efficacia deve essere ancora confermata (precursore del glutathione, impedirebbe l'accumulo di metabolici epatotossici). Le tecniche di depurazione extrarenale (dialisi peritoneale, emodialisi, plasmaferesi, emoperfusione) non sono di nessun interesse terapeutico (Mullins, Horowitz – Vet Hum Toxicol. 2000 Apr;42(2):90-1). Il trattamento dell'epatite è sintomatico. L'acme delle anomalie biologiche epatiche è osservata in generale in 4-5 giornata. La rigenerazione epatica può essere apprezzata dal dosaggio dell'alfa-fetoproteina.

In caso di insufficienza epatica grave, il trapianto epatico deve essere preso in considerazione, ma la difficoltà maggiore sta principalmente nel definire precocemente i fattori prognostici dell'irreversibilità delle lesioni epatiche.

Attualmente un trattamento molto utile è la plasmaferesi iniziata il più precocemente possibile. Sulla stessa linea recentemente (Lionte et all. – Rom J Gastroenterol. 2005 Sep.;14(3):267-71) è stato sperimentato con successo un nuovo approccio terapeutico attraverso un sistema di ricircolo epatico esterno per adsorbimento molecolare (MARS). Con tale sistema si è potuta salvare una donna di 39 anni con epatite fulminante per avvelenamento da *Amanita Phalloides* per la quale non era disponibile il ricorso ad un trapianto epatico. Questo interessante metodo di depurazione epatica con l'utilizzo di un dialisato di albumina in grado di rimuovere quella parte di albumine legate alle tossine, se pur interessante, necessita di importanti conferme.

La gravità della sindrome falloidea è dovuta alla lunga latenza, che non consente un'immediata terapia finalizzata alla eliminazione dal tubo gastroenterico delle sostanze tossiche ingerite. Le amatossine (amanina, amaninamide, amanullina, ma soprattutto l'a-amanitina ed in minor misura la Beta-Gamma ed E-amanitina), una volta assorbite a livello gastrointestinale, esercitano un'azione citotossica per inibizione dell'enzima RNA-polimerasi II, con il conseguente blocco della sintesi dell'RNA-messaggero e dunque della sintesi proteica cellulare. Tutte le cellule sono raggiunte, ma di preferenza quelle in cui avviene un'intensa sintesi proteica, come quelle digestive e soprattutto epatiche. Per poter esplicare la loro azione citotossica, le amatossine devono necessariamente passare la membrana cellulare e raggiungere il nucleo (dove si trova l'enzima RNA-polimerasi II). È stato dimostrato che tale capacità è dovuta al fatto che esse penetrano all'interno delle cellule solo se legate all'albumina e questa è la spiegazione della tossicità selettiva per quelle cellule dove si verifica anche un'elevata penetrazione di proteine per pinocitosi. Tale caratteristica è ulteriormente sfruttata a fini terapeutici (uso di penicillina, silimarina, ecc.).¹⁰²

Il problema maggiore in Italia per il trapianto nelle epatiti fulminanti è la scarsa disponibilità di organi. Vi è un elevato rischio, in queste situazioni logistiche, che un paziente si deteriori a tal punto, prima che un organo si renda disponibile, che l'encefalopatia raggiunga livelli senza ritorno.

Cirrosi post-epatitica

L'epatopatia da virus (B, C, B+D) è la patologia più frequente che giunge al trapianto sia nella sua forma acuta (fulminante) che in quella cronica. L'epidemiologia di tali virus in Europa e nel Nord America e l'incidenza delle epatopatie a loro conseguenti spiegano come circa un 30% dei candidati a trapianto abbiano patologie correlate ai virus epatitici.^{103,104,105}

Notevoli passi avanti sono stati fatti nell'ultimo decennio nel riconoscimento e nella prevenzione dei fattori di rischio correlati alla ricorrenza dell'epatopatia da virus B (HBV) nel fegato trapiantato. Ancora oggi però il problema della ricorrenza di malattia rimane aperto e i costi/benefici del trapianto in questa patologia non sono ben definiti.

È oggi accertato che l'HBV ha sedi di replicazione extra-epatiche e che il trapianto di fegato non garantisce la cura dall'infezione e dalla malattia da HBV. Resta il fatto che il trapianto in questi pazienti offre dei benefici sicuramente apprezzabili e che probabilmente un'adeguata selezione del paziente prima e una buona immunoprofilassi (immunoglobuline anti-HBs) dopo il trapianto consente di ritardare il momento della recidiva di malattia. Dopo il trapianto questi pazienti si potevano classificare in tre gruppi:

- a) portatori sani di HBsAg,
- b) epatite HBV in forma lieve e asintomatica,

- c) epatopatia cronica HBV, in alcuni casi ad andamento rapidamente progressivo verso la cirrosi epatica.

Nella valutazione dei pazienti affetti da epatopatia da virus B il primo e più importante elemento che va ricercato è lo stato di replicazione virale. Infatti, con la terapia preventiva con immunoglobuline anti-HBs dopo trapianto, in assenza di replicazione virale la possibilità di ricorrenza di malattia è nettamente inferiore rispetto ai pazienti con replicazione virale attiva^{106,107,108,109}. La coesistenza del virus Delta sembra avere un effetto positivo sulla sopravvivenza di questi pazienti dopo trapianto, probabilmente a causa dell'inibizione della replica virale del virus B.¹¹⁰

Cirrosi biliare primitiva

Per la lenta e progressiva evoluzione della malattia, la cirrosi biliare primitiva è stata utilizzata come modello per stabilire il momento migliore del trapianto. La tardiva comparsa dell'ipertensione portale con rischio di sanguinamento da varici e la minore tendenza alla trasformazione neoplastica permettono di predire sulla base di alcuni parametri biochimici quando la storia della malattia si avvicina agli stadi finali e quindi richiede la sostituzione dell'organo. I soli livelli di bilirubinemia, e altri parametri e la loro gradazione in punteggi sofisticati sono stati elaborati da diversi gruppi come quello della Mayo Clinic¹¹¹ e di Cambridge-Birmingham¹¹² (parametri: età, albumina, bilirubina, PT, edema, ecc.) e permettono di predire la prognosi con buona accuratezza.

In genere, il paziente con una probabilità di sopravvivenza inferiore ad 1 anno, secondo i suddetti modelli prognostici, viene considerato per la messa in lista per trapianto. Bisogna comunque considerare come in questa malattia altri fattori, quali il prurito intrattabile, la demineralizzazione ossea o il sanguinamento da varici esofagee, costituiscono un'aggravante che anticipa il momento del trapianto.

La sopravvivenza dopo trapianto per la cirrosi biliare primitiva è tra le migliori e la recidiva di malattia, segnalata in passato quale possibile evenienza^{113,114}, non ha trovato conferme su ampie casistiche.^{115,116}

Cirrosi alcolica

L'epatopatia alcolica, una volta considerata controindicazione relativa al trapianto, rappresenta oggi una indicazione sempre più prevalente nei paesi industrializzati.^{117,118,119} I motivi per la controindicazione erano principalmente rappresentati dal timore di scarsa compliance alla terapia immunosoppressiva dopo trapianto, dalla recidiva alla dipendenza alcolica e dalla gravità della malattia con coinvolgimento multisistemico e quindi dal maggior rischio peri-operatorio. In realtà, come evidenziato da un recente studio dell'Università di Pittsburgh, la recidiva all'alcolismo (in circa il 10%) e la scarsa compliance ai farmaci sono eventi rari dopo trapianto.

La valutazione del paziente affetto da epatopatia alcolica deve comprendere un'approfondita indagine psicologica e sociale, insieme all'analisi del set familiare, che mira a determinare: a) la consapevolezza del paziente che la causa della malattia è legata all'uso inadeguato di alcool; b) l'astinenza provata dal bere, da alcuni richiesta per almeno 6 mesi prima di considerare il paziente candidato alla lista d'attesa; c) l'adeguato supporto familiare con disponibilità a seguire pre e post-

trapianto una terapia psicologica di gruppo o individuale (Alcolisti Anonimi, Gruppo Alcolisti in Trattamento, ecc.) in caso di rischio elevato di ricaduta.

Inoltre l'attenta valutazione del candidato può identificare ed escludere le patologie associate quali la cardiomiopatia alcolica, la pancreatite cronica e l'atrofia cerebrale, che rendono l'intervento più rischioso e non migliorano la qualità di vita del paziente dopo trapianto. Il ruolo dell'astinenza di 6 mesi prima dell'inserimento in lista d'attesa è stato recentemente discusso in quanto considerato penalizzante per tali candidati che, per le gravi condizioni cliniche, possono non sopravvivere durante tale periodo di astinenza. Tale evenienza rimane comunque non universale, ed il problema del candidato con epatopatia alcolica grave senza possibilità di recupero, così come la decisione di immissione in lista d'attesa rimane oggetto di discussione.

Colangite sclerosante primitiva

L'epatopatia nei pazienti affetti da colangite sclerosante primitiva ha molte caratteristiche in comune con la cirrosi biliare primitiva, quali la colestasi, l'osteoporosi, la tardiva comparsa di ipertensione portale ed il prurito.¹²⁰ Peculiari fattori importanti nella selezione del paziente che invece differiscono sono: a) l'età giovane ed il sesso maschile; b) il decorso più rapido della malattia; c) la frequente coesistenza di malattia infiammatoria cronica dell'intestino ed il rischio di trasformazione carcinogenica del colon; d) la possibile associazione con la neoplasia delle vie biliari che controindica il trapianto. L'indicazione anche in questi casi è soprattutto basata sulla qualità di vita del paziente (prurito, osteoporosi, ripetuti ricoveri), sulle complicanze della malattia di base (ascite, encefalopatia, sanguinamenti). I parametri coagulativi e sintetici epatici in genere tendono ad essere mantenuti fino agli ultimi stadi della malattia, ed i livelli di bilirubinemia sono un indice semplice nella media generale per indicare il "timing" del trapianto (livelli > 6 mg%).¹²¹

La coesistenza di malattia infiammatoria del colon, generalmente rettocolite ulcerosa, non controindica il trapianto in quanto la malattia intestinale risente in modo positivo della terapia immunosoppressiva. Ciò nonostante, l'accurato follow-up colonscopico deve continuare anche dopo l'operazione per sorvegliare l'eventuale trasformazione neoplastica della malattia infiammatoria. Sono stati descritti casi di malattia in fase di acuzie e non rispondente alla tradizionale terapia medica che dopo trapianto di fegato è tornata alle fasi di remissione.¹²²

La riconosciuta associazione tra colangite sclerosante e colangiocarcinoma e l'infausta prognosi anche dopo trapianto per ricorrenza di tale tipo di neoplasia devono far ricercare con ogni mezzo diagnostico la possibile coesistenza di patologia neoplastica che controindica l'intervento. Ciò nonostante i nostri mezzi diagnostici non sempre ci consentono questo tipo di valutazione nella fase preoperatoria, ed in una parte dei pazienti la neoplasia viene identificata solo in fase chirurgica o in base all'attento esame morfologico sul fegato espantato.

Errori congeniti del metabolismo

L'indicazione al trapianto di fegato nei pazienti con errori congeniti del metabolismo può risultare da:

- a) epatopatia cronica direttamente conseguente al difetto metabolico;
- b) epatopatia nel quadro di una sindrome che colpisce diversi organi;

c) insufficienza di altro organo vitale come risultato di difetto congenito peculiare del fegato, ma senza epatopatia macroscopicamente evidente.

Nel primo caso il trapianto corregge il difetto metabolico inerente al fegato con il restauro della funzione enzimatica geneticamente carente.^{123,124} Nel secondo caso il trapianto di fegato non elimina il difetto metabolico che viene espresso anche da altri organi i quali (per es. il midollo nella protoporfiria) devono essere associati a volte per ottenere dei risultati soddisfacenti.^{125,126} Infine, nel terzo caso la malattia epatica è macroscopicamente assente ed il difetto metabolico si fa sentire su altri organi vitali quali cuore, polmone o reni. Esempi sono: l'ipercolesterolemia familiare^{127,128}, la deficienza di alfa-1-antitripsina, il difetto nel ciclo dell'urea, l'ossalosi e il deficit di lipoproteina tipo II.

La malattia di Wilson è un difetto autosomico recessivo dell'escrezione epatica del rame il quale si accumula in diversi organi, tra cui fegato e nuclei lenticolari del SNC, e porta a morte se non curata con farmaci chelanti o con zinco.¹²⁹ Le indicazioni al trapianto di fegato si pongono quando la malattia si presenta nella sua forma fulminante¹³⁰ oppure quando non risponde alla terapia medica con progressivo danno neurologico e/o epatico¹³¹. Dopo il trapianto il difetto escretorio viene corretto e il danno neurologico in genere è reversibile sebbene in grado variabile.¹³²

Sindrome di Budd-Chiari

Questa rara patologia è caratterizzata dall'occlusione trombotica delle vene sovraepatiche che può progredire fino a coinvolgere la vena cava inferiore.¹³³ Il decorso clinico può essere lento e graduale o rapidamente progressivo con sviluppo di ascite, encefalopatia e sanguinamento da varici esofagee. Tali evenienze, così come lo sviluppo di cirrosi, sono indicazioni al trapianto.¹³⁴

Le altre alternative terapeutiche sono operazioni di deviazione con o senza protesi che però rendono poi il trapianto tecnicamente più difficile. Il momento ideale per il trapianto è prima del rapido deterioramento con perdita di massa muscolare, coma e ascite refrattaria al trattamento.

Particolare attenzione va posta nell'identificare le possibili cause della malattia veno-occlusiva quali: disordini mieloproliferativi (policitemia), emoglobinuria parossistica notturna, deficienza di antitrombina III, proteina S o proteina C. Alcune di queste condizioni sono completamente curate con il trapianto, ma altre richiedono la continuazione della terapia anticoagulante ad vitam.¹³⁵

Terapia

Trapianto di fegato

Il trapianto d'organo rappresenta una delle più importanti conquiste cliniche del secondo millennio sia per i positivi risvolti clinici nella cura di numerose malattie ad evoluzione sfavorevole e non altrettanto efficacemente trattabili, sia per le implicazioni organizzative che tutt'oggi presenta. La storia scientifica dei trapianti inizia nel 1902, quando Alexis Carrel, chirurgo francese trasferitosi a Chicago, riuscì per primo a trovare una tecnica capace di suturare tra loro i vasi sanguigni, passo

fondamentale per poter pensare di trasferire uno organo da un corpo all'altro, infatti senza soluzioni di continuità tra segmenti vascolari sarebbe impensabile l'impianto di un organo.

Il primo trapianto vero e proprio venne effettuato a Boston, Stati Uniti, nel 1954 dal chirurgo Murray che eseguì un trapianto di rene da donatore vivente consanguineo e geneticamente identico al ricevente. Il primo trapianto di fegato coronato da successo venne invece effettuato da T.E. Starzl, nel 1967 su un piccolo paziente di 1 anno e mezzo affetto da una neoplasia epatica.^{136,137} Da tale anno anche in Inghilterra, a Cambridge, Sir Roy Calne, cominciò ad eseguire trapianti di fegato¹³⁸ e così Pichlmayr dal 1972 ad Hannover e Bismuth a Parigi dal 1974. In Italia il primo trapianto di fegato venne eseguito qualche anno più tardi e precisamente nel 1982 a Roma da Cortesini.

Da allora fu avviata l'attività in molte altre città italiane, che contano oggi 19 centri autorizzati per un'attività complessiva di oltre 800 trapianti all'anno. Mentre, nel mondo, risultano operativi circa 250 centri presso i quali sono stati eseguiti circa 120.000 trapianti.

L'affermazione definitiva del trapianto di fegato c'è stata solo negli anni '80 con l'introduzione della Ciclosporina nella pratica clinica, un fungo (*Tolypocladium inflatum*), scoperto casualmente nel 1969 da alcuni ricercatori della Sandoz, che si rileverà determinante nei trapianti d'organo per la sua capacità di inibire la reazione immunitaria. L'altro passaggio fondamentale è rappresentato dalla Consensus Conference di Washington nel 1983, dove viene riconosciuta definitivamente la validità clinica del trapianto di fegato come terapia.

Il trapianto di fegato è una procedura chirurgica particolarmente impegnativa e complessa che consiste nella rimozione di un fegato irreversibilmente ammalato e la sua sostituzione con un organo sano. L'abbreviazione più comune è OLT (Orthotopic Liver Transplantation) e, ancora oggi, viene considerato l'atto estremo della chirurgia trapiantologica sia da un punto di vista tecnico per l'elevata complessità della prestazione, sia da un punto di vista organizzativo per la necessità di disporre di numerose competenze specialistiche data la natura multifattoriale delle patologie che con esso vengono trattate.¹³⁹

Oggi l'indicazione al trapianto di fegato è posta praticamente per tutte le forme di insufficienza epatica acuta o cronica a prescindere dalla causa eziopatogenetica, ma devono essere tenuti in considerazione altri criteri.

L'età massima per il candidato al trapianto di fegato è arbitrariamente stabilita a 60 anni, ma a causa della carenza di organi si rende opportuno selezionare i candidati anche in base all'età. Sono stati tuttavia eseguiti trapianti di fegato in pazienti di età superiore ai 60 anni (ad esempio affetti da cirrosi biliare primitiva) con risultati sovrapponibili a quanto rilevato in pazienti di età inferiore.

Il ritrapianto è previsto per alcune patologie solitamente ben definite, quali:

- PNF,
- rigetto iperacuto,
- trombosi vascolare,
- rigetto cronico.

Per ogni singola patologia vi sono protocolli di selezione dei candidati per escludere la presenza di controindicazioni e protocolli di valutazione di malattie associate (ad esempio osteoporosi nelle forme colestatiche, malattie infiammatorie dell'intestino nella colangite sclerosante primitiva,

alterazioni neurologiche nella Malattia di Wilson, malattie ematologiche o linfoproliferative nella Sindrome di Budd-Chiari, etc...¹⁴⁰).

Intervento chirurgico

1. Le tecniche operatorie del trapianto di fegato

Il trapianto si distingue in base al donatore:

- da persona vivente (per fegato e rene),
- da cadavere.

Il fegato può essere trapiantato per intero o diviso, con le seguenti tecniche

- Piggy Back: consente la conservazione della vena cava del ricevente,
- Ortotopico classico : senza conservazione della vena cava del ricevente,
- Split liver: divisione dell'organo che viene trapiantato in due riceventi (in genere un adulto e un bambino) o da un donatore vivente a un ricevente.

2. Il prelievo

Gli organi vengono prelevati da un paziente di cui sia stata accertata la morte cerebrale. L'accertamento dell'assenza di condizioni vitali nell'encefalo viene fatta da una commissione di tre specialisti (un esperto in neurofisiologia, un rianimatore e un medico legale) monitorizza le condizioni cliniche per 6 ore.

Una volta accertata la morte cerebrale, può essere effettuato il prelievo dell'organo, che viene mantenuto in condizioni di ipotermia al massimo per 24 ore.

3. Assegnazione organo

L'assegnazione dell'organo disponibile, viene fatta in seguito alla verifica dei seguenti parametri di compatibilità dell'organo tra donatore e ricevente:

- a. gruppo sanguigno,
- b. compatibilità dimensioni corporee donatore/ricevente,
- c. urgenza clinica,
- d. a parità di condizioni, tempo di iscrizione nella lista dei pazienti in attesa di trapianto.

Normative vigenti

In Italia il trapianto è regolato dalla legge n. 91 del 1 aprile 1999 e da un decreto del Ministero della Sanità, dell'8 aprile 2000, che prevede anche una lista d'attesa nazionale dei trapianti e la regola del silenzio - assenso del donatore.

Decreto 11 aprile 2008: Aggiornamento del decreto 22 agosto 1994, n. 582 relativo al: "Regolamento recante le modalità per l'accertamento e la certificazione di morte"

Art.1: Accertamento della morte e arresto cardiaco

1. In conformità all'art.2, comma 1, della legge 29 dicembre 1993, n.578, l'accertamento della morte per arresto cardiaco può essere effettuato da un medico con il rilievo continuo dell'elettrocardiogramma protratto per non meno di 20 minuti primi, registrato su supporto cartaceo o digitale.

Art.2: Requisiti clinico-strumentali per l'accertamento della morte nei soggetti affetti da lesioni encefaliche e sottoposti a trattamento rianimatorio.

1. Nei soggetti affetti da lesioni encefaliche sottoposti a trattamento rianimatorio, salvo i casi particolari indicati al comma 2, le condizioni che, ai sensi della legge 29 dicembre 1993, n.578, art.3, impongono al medico della struttura sanitaria di dare immediata comunicazione alla Direzione sanitaria dell'esistenza di un caso di morte per cessazione irreversibile di tutte le funzioni dell'encefalo, sono:
 - a) assenza dello stato di vigilanza e di coscienza, dei riflessi del tronco encefalico e del respiro spontaneo;
 - b) assenza di attività elettrica cerebrale;
 - c) assenza di flusso ematico encefalico, nelle situazioni particolari previste al comma 2.L'iter diagnostico deve comprendere la certezza della diagnosi eziopatogenetica della lesione encefalica e l'assenza di alterazioni dell'omeostasi termica, respiratoria, cardiocircolatoria, endocrino-metabolica, di grado tale da interferire sul quadro clinico-strumentale complessivo.
2. È prevista l'esecuzione di indagini atte ad escludere l'esistenza di flusso ematico encefalico nelle sotto elencate situazioni particolari:
 - a) bambini di età inferiore ad 1 anno;
 - b) presenza di farmaci depressori del sistema nervoso di grado tale da interferire sul quadro clinico-strumentale complessivo; in alternativa al rilievo del flusso ematico cerebrale, l'iter può essere procrastinato sino ad escludere la possibile interferenza dei suddetti farmaci sul quadro clinico-strumentale complessivo;
 - c) situazioni cliniche che non consentono una diagnosi eziopatogenetica certa o che impediscono l'esecuzione dei riflessi del tronco encefalico, del test di apnea o la registrazione dell'attività elettrica cerebrale.
3. Per l'applicazione delle indagini strumentali di flusso ematico cerebrale si rinvia alle Linee guida di cui in premessa, approvate dalla Consulta tecnica nazionale per i trapianti.
4. Nel caso in cui il flusso ematico cerebrale risulti assente, il medico della struttura sanitaria è tenuto a dare immediata comunicazione alla Direzione sanitaria, ai sensi dell'art. 3, legge 29 dicembre 1993, n. 578.

Art. 3: Accertamento della morte nei soggetti affetti da lesioni encefaliche e sottoposti a trattamento rianimatorio

1. Nei soggetti di cui all'art. 2, la morte è accertata quando sia riscontrata, per il periodo di osservazione previsto dall'art.4, la contemporanea presenza delle seguenti condizioni:
 - a) assenza dello stato di vigilanza e di coscienza;
 - b) assenza dei riflessi del tronco encefalico:
 - i. riflesso fotomotore,
 - ii. riflesso corneale,
 - iii. reazioni a stimoli dolorifici portati nel territorio d'innervazione del trigemino,
 - iv. risposta motoria nel territorio del facciale allo stimolo doloroso ovunque applicato,
 - v. riflesso oculo-vestibolare,
 - vi. riflesso faringeo,
 - vii. riflesso carenale;
 - c) assenza di respiro spontaneo con valori documentati di CO₂ arteriosa non inferiore a 60 mmHg e pH ematico non superiore a 7,40, in assenza di ventilazione artificiale;
 - d) assenza di attività elettrica cerebrale, documentata da EEG eseguito secondo le modalità tecniche riportate nell'allegato 1 al presente decreto, di cui costituisce parte integrante;
 - e) assenza di flusso ematico encefalico preventivamente documentata nelle situazioni particolari previste dall'art. 2, comma 2.

2. L'attività di origine spinale, spontanea o provocata, non ha alcuna rilevanza ai fini dell'accertamento della morte, essendo compatibile con la condizione di cessazione irreversibile di tutte le funzioni encefaliche.
3. Nel neonato, nelle condizioni di cui al presente articolo, l'accertamento della morte può essere eseguito solo se la nascita è avvenuta dopo la trentottesima settimana di gestazione e comunque dopo una settimana di vita extrauterina.

Art. 4. Periodo di osservazione

1. Ai fini dell'accertamento della morte la durata del periodo di osservazione deve essere non inferiore a 6 ore.
2. In tutti i casi di danno cerebrale anossico il periodo di osservazione non può iniziare prima di 24 ore dal momento dell'insulto anossico, ad eccezione del caso in cui sia stata evidenziata l'assenza del flusso ematico encefalico. In tale condizione, il periodo di osservazione può iniziare anche prima di 24 ore dal momento dell'insulto anossico, di seguito alla documentazione dell'assenza del flusso ematico encefalico.
3. La simultaneità delle condizioni necessarie ai fini dell'accertamento deve essere rilevata dal collegio medico per almeno due volte, all'inizio e alla fine del periodo di osservazione. La verifica di assenza di flusso non va ripetuta.
4. Il momento della morte coincide con l'inizio dell'esistenza simultanea delle condizioni di cui all'art. 3, comma 1.

Art. 5. Arresto cardiaco irreversibile durante il periodo di osservazione

1. Qualora durante il periodo di osservazione di cui all'art. 4, si verifichi la cessazione del battito cardiaco, l'accertamento della morte può essere effettuato con le modalità previste all'art. 1.

Legge 1° aprile 1999, n. 91: Disposizioni in materia di prelievi e di trapianti di organi e di tessuti, pubblicata nella Gazzetta Ufficiale n. 87 del 15 aprile 1999¹⁴¹

È la legge cardine attualmente in vigore. Contiene all'articolo 2 le disposizioni per la promozione dell'informazione in materia di prelievo e trapianto ai cittadini e ai professionisti sanitari. L'articolo 4 è dedicato alla dichiarazione di volontà in ordine alla donazione. Si introduce il concetto del "silenzio/assenso" in base al quale il cittadino è tenuto entro un tempo prestabilito a dichiarare la propria volontà a donare gli organi e tessuti dopo la morte e l'eventuale mancata dichiarazione di volontà viene considerata quale consenso alla donazione. Ma questo passaggio fondamentale ha reso necessario il capoverso successivo, che cioè a tutti venga notificata la richiesta di manifestare la propria volontà: se non si è in grado di dimostrare che i cittadini sono stati avvertiti di manifestare la propria volontà non è nemmeno possibile considerare la mancata manifestazione come consenso alla donazione. Procedendo, al Capo III della Legge viene disciplinata l'organizzazione dei prelievi e dei trapianti di organi e tessuti. Le strutture che se ne occupano vengono identificate in: Centro Nazionale Trapianti, Consulta tecnica permanente per i trapianti, Centri regionali e interregionali con propri coordinatori, Coordinatori locali, Strutture per i prelievi, Strutture per la conservazione dei tessuti, Strutture per i trapianti. Nella Legge vengono definite le funzioni e le caratteristiche delle strutture suddette. I capoversi successivi si concentrano su alcune indicazioni in merito: alla delega alle regioni di individuare le strutture di conservazione e distribuzione di tessuti secondo norme di idoneità e sicurezza; agli scambi di organi e tessuti con l'estero; alla formazione del personale.

Trapianti: la ricetta del successo spagnolo

In materia di donazione d'organi, l'Organizzazione mondiale della sanità (OMS) ha approvato nel 2010 una strategia basata sul modello spagnolo.¹⁴² La chiave del successo di questo sistema risiede nell'organizzazione, promossa da Rafael Matesanz, direttore dell'Organizzazione nazionale dei trapianti spagnola. Da molti anni, la Spagna è al primo posto mondiale per quanto concerne la donazione e il trapianto di organi. Oggi il tasso è di 35 donatori per milione di abitanti, mentre la media dell'Unione Europea è di 19. Prima dell'introduzione di questo sistema il tasso era di 14 donatori per milione di abitanti.

Secondo il modello spagnolo, affinché vi siano donatori, la popolazione deve essere sensibilizzata e contemporaneamente negli ospedali devono essere presenti professionisti ben formati, che coordinino i trapianti, oltre alla presenza di un'organizzazione che permetta di risolvere i problemi quotidiani. Il modello spagnolo è stato introdotto nel 1989. In soli tre anni, la Spagna è diventata il primo paese al mondo per quanto concerne le donazioni di organi e continua a essere in testa alla classifica da 21 anni.

Fondamentale è l'organizzazione. Il dono d'organi non dipende dal grado di generosità della popolazione. La percentuale di persone favorevoli o contrarie al dono d'organi non ha nulla a che vedere con il numero effettivo di donatori. La popolazione può essere predisposta a donare i propri organi, ma se non c'è un sistema che funziona questa generosità non si concretizza. La parola chiave del modello spagnolo è quindi organizzazione.

Altri Paesi che hanno compiuto i progressi maggiori negli ultimi anni nel campo delle donazioni hanno ripreso parzialmente il modello spagnolo. Alcune regioni dell'Italia, come la Toscana, hanno tassi simili o superiori a quello spagnolo. Progressi sono stati compiuti anche in Francia e in Belgio.

In teoria, la Spagna applica il sistema del consenso presunto, infatti la legge afferma che ogni cittadino è donatore se non ha espresso opinione contraria. In pratica, però, si consulta sempre la famiglia della persona deceduta. In Spagna, tra il 15 e il 20% delle famiglie rifiutano i trapianti. La donazione non è quindi automatica.

I principali pilastri del modello spagnolo sono:

- una rete di coordinatori di trapianti che funge da tramite con le diverse istituzioni statali,
- un consiglio interregionale composto dai responsabili di questo settore,
- dei coordinatori negli ospedali con formazione medica,
- un sistema di vigilanza continua nei reparti di terapie intensive in caso di morti cerebrali,
- una legislazione che definisce la morte cerebrale, le condizioni per prelevare gli organi e il divieto di motivazioni economiche,
- un servizio centralizzato incaricato della distribuzione e dei trasporti degli organi, delle statistiche e delle liste di attesa.

Terapia immunosoppressiva

Nonostante nel tempo le tecniche di chirurgia trapiantologica abbiano fatto costanti e significativi passi in avanti, il successo del trapianto d'organo nell'uomo è attribuito soprattutto allo sviluppo di strategie d'uso degli immunosoppressori.

La principale classificazione dei farmaci immunosoppressori consente una suddivisione in due categorie: anti-linfocitari e anti-proliferanti.

1. Corticosteroidi

I corticosteroidi sono considerati agenti anti-proliferanti poiché deprimono il sistema immunitario attraverso una riduzione dell'attività e della quantità di cellule del sistema linfatico, determinando linfocitopenia. Essi inibiscono la produzione di linfocine e la capacità dei macrofagi di rispondere ai segnali derivati dalle cellule T. Un ulteriore effetto è quello di inibire la concentrazione ematica delle immunoglobuline e del complemento e di inibire la capacità tissutale conseguente all'interazione antigene/anticorpo.

I corticosteroidi sono ritenuti i farmaci principali per l'immunosoppressione, anche se esistono classificazioni più specifiche riguardanti il meccanismo d'azione di tali farmaci permettendone una suddivisione in diverse classi: inibitori della trascrizione delle citochine, inibitori della calcineurina, (Ciclosporina ed FK 506), inibitori della traduzione delle citochine (Rapamicina) e inibitori della sintesi del DNA (Azatioprina e Mofetil Micofenolato).

La poliedricità farmacodinamica si contrappone al vasto numero di effetti collaterali e reazioni avverse legate soprattutto alla loro somministrazione prolungata. Tra di essi i più frequenti sono: l'ipertensione, l'edema, l'osteoporosi, l'intolleranza ai glucidi, fino al diabete mellito, l'ulcera peptica, il ritardo della guarigione delle ferite, l'atrofia muscolare, l'irsutismo, la cataratta, il glaucoma e le modificazioni psichiche.

I corticosteroidi vanno inoltre considerati farmaci di prima scelta nel trattamento del rigetto acuto, controllato nella quasi totalità dei casi con un bolo endovena di 1 g di Metilprednisone, e sono essenziali nella maggior parte dei protocolli terapeutici di immunosoppressione.¹⁴³

2. Ciclosporina

La scoperta della Ciclosporina A (CsA) nel 1972 è stata fondamentale riguardo allo sviluppo clinico dei trapianti d'organo, rendendo possibile anche il trapianto di polmone e del piccolo intestino. L'aumento della sopravvivenza dei pazienti e degli organi trapiantati, soprattutto del fegato, si è accompagnata alla riduzione della frequenza e della gravità degli effetti collaterali attribuibile alle alte dosi di corticosteroidi.

La CsA è un peptide prodotto da un micete e costituito da 11 amminoacidi di cui la maggior parte idrofobici. Per tale motivo la biodisponibilità del farmaco è estremamente variabile e condizionata dagli stati di malfunzione intestinale, di colestasi, di ridotta capacità di svuotamento gastrico e dall'alterato flusso biliare nell'intestino.

L'effetto immunosoppressore avviene prevalentemente a carico dei linfociti T, con un blocco degli eventi di attivazione e di maturazione degli stessi linfociti, mediati dal recettore specifico. Si ha una riduzione del rilascio selettivo di IL2 da parte dei linfociti, causata dal blocco a livello intracellulare per un legame tra CsA e calmodulina. Bloccando questi processi di traduzione del segnale si realizza l'attivazione di geni responsabili della produzione di linfocine. Perciò l'effetto selettivo mira solo al comparto linfoide del sistema immunitario, conservando la competenza del sistema umorale.¹⁴⁴

La finestra terapeutica della CsA è particolarmente ristretta, dati i suoi effetti collaterali, tra i quali particolarmente importanti sono l'insufficienza renale acuta e cronica, la neurotossicità, l'epatotossicità, l'iperplasia gengivale e l'iperpotassemia; in più, se la terapia necessita di alti dosaggi, sono più probabili infezioni e neoplasie. La nefrotossicità è il principale effetto collaterale della CsA ed il suo dosaggio è monitorato per ottenere il risultato terapeutico, evitando l'insorgenza di tali effetti. Nel post operatorio infatti uno dei maggiori rischi per i soggetti trapiantati è la compromissione della funzionalità renale. Probabilmente tale effetto è in parte conseguente all'aumento delle resistenze vascolari a livello renale indotto da CsA, connesso con l'incremento del rilascio di prostaglandine in corso di terapia. Inoltre questi pazienti registrano una riduzione dei livelli ematici di renina e di aldosterone, compatibile con l'aumento delle resistenze vascolari e quindi con l'ipertensione.^{145,146,147,148} La neurotossicità si riscontra in una percentuale intorno al 20% dei pazienti, i quali riportano tremori, cecità corticale, quadriplegia, convulsioni fino al coma. È inoltre riportato un incremento dell'incidenza di linfoma o di malattie linfoproliferative nel 2-4% dei pazienti sottoposti a trapianto di fegato.¹⁴⁹

La dose di CsA somministrata è di 2-4 mg/Kg/die, in infusione continua in 24 ore, per 1-2 giorni nel post operatorio viene affiancata e poi sostituita da una somministrazione orale di 2-8 mg/Kg/die, tutto ciò solo nel momento in cui è possibile garantire e mantenere un buon controllo dell'assorbimento intestinale. I livelli ematici di CsA devono essere portati da 150-350 ng/mL nel primo periodo post operatorio, a 50-150 ng/mL entro i primi 3-6 mesi dal trapianto, per evitare manifestazioni di tossicità.¹⁵⁰

Per evitare gli effetti indesiderati, sono state studiate le associazioni tra CsA-prednisone, CsA-azatioprina-steroidi, azatioprina-steroidi e successiva sostituzione con CsA-steroidi.

Nonostante l'introduzione della CsA, l'incapacità di controllare il rigetto d'organo e la presenza di numerosi effetti collaterali rappresentano un problema non indifferente legato all'uso degli immunosoppressori.

3. Tacrolimus

I progressi fatti nella comprensione dei meccanismi del rigetto d'organo hanno consentito l'identificazione di nuovi trial clinici includenti nuovi farmaci come Tacrolimus o FK506, isolato nel 1985 dalla Fujisawa Pharmaceutical Company.

L'FK506 ha dimostrato la capacità di inibire il sistema immunitario con un'intensità 100 volte superiore rispetto a CsA, valutata con studi eseguiti in vivo ed in vitro. Questo farmaco è il prodotto attivo di un micete designato come *Streptomyces tsukubaensis*. Si tratta di un macrolide lattone con struttura differente rispetto a CsA, ma è strettamente correlato ad un altro nuovo immunosoppressore, la Rapamicina (RPM), originariamente scoperto come metabolita antifungino, prodotto da uno streptomicete.

Nonostante la notevole somiglianza strutturale tra i 2 immunosoppressori, è stato dimostrato che i due composti agiscono attraverso meccanismi molecolari estremamente diversi.

Il Tacrolimus inibisce l'attivazione della popolazione dei linfociti T a livello trascrizionale agendo sull'induzione dei geni responsabili della produzione di numerose linfochine, tra cui

IL2, IL3, IL4, TNF- α ed altri. Si è visto inoltre che sia la CsA che l'FK506 sono in grado di inibire la trascrizione genica per la produzione del recettore specifico di IL2. A livello intracellulare l'FK lega una proteina citoplasmatica simile alla ciclofilina, bloccando in questo modo la via di trasduzione del segnale verso l'espressione delle stesse linfocine.^{151,152}

La farmacocinetica dell'FK evidenzia una rapida biodisponibilità, ed il suo assorbimento a livello intestinale non è dipendente dalla presenza di bile all'interno del tratto gastrointestinale. Nel paziente trapiantato infatti l'assorbimento non è influenzato dal clampaggio del tubo a T di Kehr o dalla presenza di colestasi.

Il farmaco è fortemente associato ai globuli rossi, ed al di fuori dei compartimenti vascolari si distribuisce in cuore, polmoni, milza, reni e pancreas. L'eliminazione del farmaco avviene prevalentemente a livello epatico, tanto che in pazienti con alterazioni delle funzioni epatiche sono evidenti alti livelli plasmatici di FK ed il prolungamento della sua emivita.

L'associazione tra CsA e Tacrolimus non è realizzabile a causa dell'alta incidenza di fenomeni di tossicità.

Uno dei vantaggi dell'FK, rilevato in uno studio effettuato presso l'università di Pittsburgh, è rappresentato dal minor numero di effetti collaterali rispetto alla CsA. L'FK infatti non determina l'ipertrofia gengivale e l'irsutismo, ed anche la frequenza con la quale si manifestano gli altri effetti più significativi come infezioni opportunistiche e neoplasie è ridotta rispetto alla CsA. La necessità di terapia insulinica, ma anche tremori, parestesie, prurito, astenia, sintomi gastroenterici, risultano simili in terapia con entrambi gli immunosoppressori; la neurotossicità è osservata nel 8,4% dei pazienti e la nefrotossicità nel 31,1%.¹⁵³

L'FK è stato usato per la prima volta nei pazienti trapiantati di fegato in sostituzione della CsA, che risultava tossica. Questo nuovo farmaco è risultato avere la stessa capacità di determinare l'immunosoppressione attraverso la regressione di episodi di rigetto.

A seguito di diversi studi prospettici randomizzati, sono state stabilite la via di somministrazione endovena e le dosi, comprese tra 0,05 e 0,075 mg/kg/die, iniziando 4 ore dopo la rivascolarizzazione del nuovo fegato. Quando il paziente riprende ad alimentarsi inizia la somministrazione orale.

4. Azatioprina

Un altro immunosoppressore usato nel TOF è l'antimetabolita Azatioprina, un analogo delle purine. Strutturalmente è una 6-mercaptapurina (6MP), con l'aggiunta di una catena laterale, è metabolizzata a livello epatico dove si viene a costituire la forma attiva, 6MP ribonucleotide. Grazie alla sua somiglianza con la Inosina monofosfato, essa esplica la sua funzione che è quella di inibire gli enzimi che iniziano la conversione da inosina nucleotidi ad inosina e guanosina monofosfato, interferendo in tal modo con la sintesi degli acidi nucleici.

L'azatioprina interferisce così con lo sviluppo della risposta immunitaria cellulare e umorale, attraverso l'inibizione della differenziazione e della proliferazione dei linfociti T e B attivati. Una diretta conseguenza del suo meccanismo d'azione è quindi la depressione midollare, tra cui la leucopenia che, quando si manifesta, diventa la guida per la valutazione del dosaggio

dello stesso immunosoppressore. Un altro effetto collaterale si esplica proprio sull'organo trapiantato compromettendone la sua capacità di sintesi.¹⁵⁴

Terapia antivirale

È importante descrivere anche un'altra tipologia di farmaci utilizzata come terapia per quei pazienti candidati al trapianto ed affetti da HCV. L'importanza di questa categoria farmacologica risiede nella possibilità del loro utilizzo anche dopo il trapianto in associazione con gli immunosoppressori. Questo approccio terapeutico è del tutto innovativo. Il ruolo dei farmaci antivirali è stato definito durante la Consensus Conference Europea sull'epatite C attraverso la codifica delle linee guida per il trattamento dell'infezione da HCV.

La terapia è indicata per i casi di cirrosi iniziale, ancora in fase ben compensata e senza importante ipertensione portale. Controindicazione assoluta alla terapia è invece la presenza di segni attuali o pregressi di scompenso epatico.¹⁵⁵

Per quanto concerne i regimi di trattamento consigliati, la terapia di combinazione con IFN- α e Ribavirina è indicata come la terapia standard per l'HCV, in quanto nettamente più efficace rispetto al solo Interferone.¹⁵⁶

Numerose sono le variabili che si dimostrano influenzare in modo significativo la probabilità di risposta alla terapia con Interferone isolato o in associazione con la Ribavirina nell'epatite cronica HCV. Queste variabili comprendono: peso corporeo, età, sesso, grado della fibrosi epatica, stato immunitario, e soprattutto il genotipo e la carica virale.

La probabilità di ottenere una risposta primaria ed una risposta mantenuta anche dopo la sua sospensione è nettamente ridotta nei pazienti con HCV-1 e/o con elevata carica virale rispetto ai casi infettati da altri genotipi e/o con bassa viremia.¹⁵⁷

L'interferone alfa ha dimostrato effetto antivirale, antifibrotico ed antiproliferativo quando somministrato a pazienti con infezione cronica da HCV. Non è ancora del tutto chiaro quanto gli effetti sulla fibrosi e sulla proliferazione siano diretti o piuttosto secondari all'effetto antivirale che, determinando l'interruzione della replicazione di HCV nel fegato, comporta di conseguenza lo spegnimento dell'attività necro-infiammatoria, fattore determinante la fibrogenesi e la proliferazione abnorme delle cellule epatiche. Con questa terapia si ha una prima fase di rapido declino della viremia che può essere seguita da una seconda fase caratterizzata da una cinetica meno rapida. La prima fase è influenzata dalla dose di IFN e ne misura direttamente l'attività antivirale, mentre la seconda fase è espressione dell'emivita delle cellule infettate ed è quindi espressione della efficienza nella eliminazione immuno-mediata del virus dal fegato. Questa fase è molto meno influenzata dalla dose di IFN.¹⁵⁸

Un miglior approccio terapeutico all'infezione cronica da HCV riguarda l'introduzione delle nuove preparazioni di Interferone alfa coniugato con glicole polietilenico (PEG), che ne modifica in modo sostanziale la farmacocinetica, con un più lento assorbimento ma soprattutto una clearance estremamente rallentata.¹⁵⁹

L'altro farmaco d'elezione è la Ribavirina, analogo nucleosidico con ampio spettro antivirale, ma debole attività specifica per HCV, che ha dimostrato ben scarsi effetti quando utilizzata in

monoterapia. La sua associazione con l'IFN alfa migliora molto la seconda fase cinetica e riduce in modo molto significativo i tassi di recidiva dopo sospensione della terapia.

La Ribavirina, pertanto, sembra potenziare l'effetto di IFN principalmente attraverso meccanismi di immunoregolazione, favorendo una più rapida, completa ed efficace eliminazione delle cellule epatiche infettate. Ciò avviene prevalentemente, se non esclusivamente, nei soggetti nei quali l'IFN ha determinato una efficace soppressione della replicazione di HCV.

Per quanto riguarda la risposta immune di tipo umorale, i risultati degli studi compiuti nel modello dello scimpanzé suggeriscono che la risposta anticorpale sia meno cruciale per il controllo iniziale dell'infezione, anche se la produzione di anticorpi neutralizzanti contribuisce certamente alla risoluzione spontanea dell'infezione.¹⁶⁰

Fotochemioterapia Extracorporea (ECP) o Fotoferesi o Fotoaferesi (FAF)

L'ultimo approccio terapeutico non è di tipo farmacologico, ma si è dimostrato fondamentale nel garantire la normale performance dell'organo trapiantato e nel ridurre il rischio di rigetto soprattutto nella fase iniziale del post trapianto.¹⁶¹

Nel 1988 la FDA approvò l'uso della fotoferesi nel trattamento della Sindrome di Sezary.¹⁶²

Oggi la fotoferesi è una terapia cellulare che ha dimostrato efficacia in un gran numero di malattie autoimmuni e mediate da cellule T, come il linfoma cutaneo a cellule T (CTCL) e la sclerodermia, ed è stata usata come trattamento per indurre la tolleranza nei trapianti sia di organo solido che di cellule staminali.

L'ECP consiste quindi nell'esposizione di cellule mononucleate di sangue periferico (MNCs) ad un agente foto sensibilizzante (8-MOP) seguito dall'irraggiamento con raggi ultravioletti di tipo A (UVA) all'interno di una camera di plastica attraverso la quale passano le cellule. Le cellule irradiate sono quindi reinfuse nel paziente. Il numero di MNCs trattate in ogni procedura di ECP è variabile e dipende dal numero totale di cellule bianche nel sangue, ma approssimativamente vengono trattate solo il 2-5% di MNCs presenti nel sangue periferico. Le prime osservazioni degli effetti immuno-modulatori di ECP nei pazienti CTCL hanno sottolineato l'induzione di una risposta mediata delle cellule CD8+ citotossiche nel sangue periferico così come nelle lesioni cutanee durante il trattamento.¹⁶³ L'ECP è stata dapprima sperimentata in pazienti con GVHD (graft-versus-host-disease), basandosi sulla sua efficacia riportata in pazienti con manifestazione cutanea della GVHD e sulla dimostrazione che i raggi UV influiscono direttamente sulle cellule di Langherans (ossia cellule presentanti l'antigene).¹⁶⁴ Vari studi hanno dimostrato l'efficacia di ECP nel trattare la GVHD acuta e cronica con miglioramenti nelle manifestazioni cutanee e nell'implicazione dell'attecchimento dell'organo.^{165,166,167,168,169}

Il meccanismo preciso con il quale l'ECP modula una risposta immunitaria in un paziente con GVHD cronico o rigetto d'organo non è del tutto noto, anche se oggi è chiaro che questo trattamento coinvolge non solo la popolazione di cellule T circolanti ma anche le cellule dendritiche precursori dei monociti.

Altri studi hanno riportato che il trattamento di ECP in pazienti con GVHD resistente agli steroidi sia associato ad uno spostamento in vivo dallo stato attivato delle cellule T e delle cellule dendritiche monocitoidi ad uno stato tollerogenico.¹⁷⁰

Gli effetti immunologici osservati dopo ECP includono la normalizzazione della frazione di CD4+ convertiti a CD8+, un incremento generalizzato nel numero di CD56+ (cellule Natural Killer, NK) e un'attenuazione della capacità delle cellule dendritiche di stimolare la proliferazione di cellule T autologhe o allogeniche in colture di linfociti misti.¹⁷¹ Inoltre il trattamento con ECP è stato associato allo spostamento del profilo delle citochine prodotte dai linfociti circolanti, da uno francamente infiammatorio con attivazione delle cellule Th1 e produzione di IL-2, INF- γ , ad un profilo con Th2 e conseguente sintesi di IL-4, IL-10. Questi risultati suggeriscono che ECP potrebbe esercitare i propri effetti in un senso più globale per ristabilire l'equilibrio immunologico.

Il meccanismo che permette la differenziazione dei monociti a DCs immature indotto da ECP è stato successivamente spiegato attraverso l'aderenza transitoria dei monociti ad una superficie plastificata.¹⁷²

Un altro studio ha dimostrato che, in presenza di cellule Sezary apoptotiche, i monociti vanno incontro a maturazione a DCs con l'espressione del marker CD83, tipico delle cellule dendritiche mature.¹⁷³ Sebbene le cellule DCs immature siano incapaci di fagocitare cellule tumorali apoptotiche, le cellule DCs fagocitano avidamente queste cellule e sono capaci di presentare i peptici idiotipici nei loro complessi MCH di I classe. Così è stato ipotizzato che il contatto con le piastre di plastica nelle camere della ECP induca il passaggio da DCs immature a cellule DC caricate di antigeni tumorali.¹⁷⁴

Gorgun e colleghi hanno individuato un cambiamento nella produzione di citochine dopo ECP in pazienti con GVHD cronica, incluso un aumento di IL10 e un decremento di IL12.

È stato successivamente dimostrato che l'ECP induce una popolazione di cellule T CD4+CD25+ che funzionano come soppressori nelle reazioni di linfociti misti, coerente con le cellule T regolatorie, Treg.¹⁷⁵

Il meccanismo di induzione di una risposta tollerogenica potrebbe comprendere l'effetto diretto sulle DCs e l'effetto indiretto sulle variazioni nella secrezione delle citochine, in particolar modo nel decremento delle citochine indotte dalla risposta Th1.¹⁷⁶ Il contatto con la superficie plastica durante il trattamento ECP è sufficiente ad indurre l'attivazione dei precursori DC monocitoidi a DCs immaturi, capaci di fagocitare cellule apoptotiche.

Presso l'ospedale di Cisanello è stata avviata da anni una collaborazione tra il Centro Trasfusionale e la Trapiantologia epatica per impiegare la fotoferesi come adiuvante nella terapia e nella profilassi del rigetto d'organo e nel TOF.

Complicanze Mediche

I candidati al trapianto di fegato sono spesso individui affetti da una malattia cronica particolarmente grave, frequentemente accompagnata da complicanze sistemiche con coinvolgimento di altri distretti quali reni, pancreas, sistema nervoso centrale e periferico, cuore e polmone.¹⁷⁷

Il paziente trapiantato di fegato nell'immediato post-operatorio si trova quindi a dover affrontare, oltre alle complicanze insite in un intervento chirurgico maggiore, anche le conseguenze dei

problemi medici eventualmente pre-esistenti.^{178,179,180} Va inoltre ricordato che i farmaci utilizzati per la prevenzione del rigetto sono frequentemente responsabili di effetti collaterali che si sovrappongono ai problemi della ripresa funzionale multi organo.^{181,182,183,184}

Complicanze mediche nel post-trapianto

Immediato post-operatorio	Insufficienza primaria d'organo Pancreatite acuta
Prima settimana (3-7 giorni)	Rigetto acuto d'organo Infettive (batteriche, virali) Polmonari (versamento pleurico, emotorace, pneumotorace, edema polmonare, atelettasia, ARDS) Cardiovascolari (insufficienza cardiaca, ipertensione arteriosa) Renali (insufficienza renale acuta, necrosi tubulare acuta) Ematologiche (anemia, leucopenia, piastrinopenia) Gastrointestinali (sanguinamenti, ostruzioni intestinali, perforazione) Sistema nervoso centrale (tremori, convulsioni, stato confusionale, coma, psicosi, insonnia, mielinolisi pontina centrale, cecità corticale) Metaboliche (alcalosi metabolica, ipocloremia, iper/ipopotassiemia, ipomagnesemia, iperglicemia, osteoporosi) Malattie linfoproliferative
Da 4-6 settimane	Rigetto cronico d'organo Infezioni opportunistiche (fungine, batteriche, virali) Stenosi biliare Ipercolesterolemia Obesità

Disfunzioni renali

Le alterazioni renali rappresentano la più comune complicanza dopo il trapianto di fegato in fase sia precoce sia tardiva.^{185,186}

La maggior parte dei pazienti sottoposti a trapianto di fegato per cirrosi epatica hanno alle spalle una lunga storia di scompensi ascitici ed emodinamici, ipoproteinemia e terapie diuretiche, tutti fattori che possono predisporre all'insorgenza di un'insufficienza renale funzionale od organica sia durante la procedura chirurgica, sia nell'immediato post-operatorio.¹⁸⁷

Una lieve disfunzione renale precoce, caratterizzata da diminuzione della diuresi e da un aumento dei livelli di creatininemia, è un evento frequente nel corso della prima settimana post-trapianto. Il picco di incidenza è tipicamente in 3^a o 4^a giornata dopo il trapianto di fegato. Interessa il 50% circa dei pazienti e, nella maggioranza dei casi, sembra riflettere una tossicità da farmaci oppure un danno ischemico renale associato alla procedura chirurgica. Nei soggetti trapiantati di fegato in cui Ciclosporina A o FK506 sono utilizzati come farmaco base del protocollo immunosoppressivo, la diuresi deve spesso essere mantenuta dall'abbondante infusione intravenosa di fluidi, associata alla somministrazione di diuretici d'ansa e/o dopamina durante le prime 24-48 ore dopo il trapianto di fegato.¹⁸⁸

Il mantenimento di condizioni emodinamiche stabili per preservare un flusso renale ottimale rappresenta un fattore importante per prevenire l'insorgenza di un'insufficienza renale.¹⁸⁹

La necrosi tubulare acuta può insorgere come conseguenza di importanti stati ipotensivi o di sanguinamenti seguiti da massive trasfusioni durante l'intervento, oppure può seguire la somministrazione di antibiotici aminoglicosidici, amfotericina B od altri farmaci nefrotossici. Occasionalmente le infezioni urinarie ascendenti conseguenti a manovre strumentali nel tratto urinario possono essere la causa di tale nefropatia, soprattutto in soggetti diabetici ed eccessivamente immunosoppressi.

Un'insufficienza renale insorta dopo la prima settimana dal trapianto di fegato (insorgenza tardiva) generalmente tende ad avere una prognosi meno favorevole di quella che insorge entro una settimana dall'intervento (insorgenza precoce).

I fattori più frequentemente associati all'insufficienza renale ad insorgenza tardiva sono uno stato di shock ipovolemico, la sepsi, l'uso di antibiotici nefrotossici, l'insufficienza epatica e il rigetto d'organo che richieda un aumento del dosaggio della terapia immunosoppressiva.

Nella patogenesi del danno renale da Ciclosporina A o da FK506 sono state osservate una varietà di alterazioni funzionali dell'emodinamica renale, in particolare la diminuzione del flusso plasmatico renale e del tasso di filtrazione glomerulare, associate ad un possibile danno tubulare renale¹⁹⁰. Poiché il danno renale è primariamente di natura funzionale, la biopsia renale dimostra solamente lievi o moderate alterazioni, scarsamente correlate con la funzione renale. Tutti i pazienti trapiantati di fegato vanno incontro ad una diminuzione del 20-50% della clearance della creatinina entro i primi 3 mesi dall'inizio della terapia immunosoppressiva con Ciclosporina A (o FK506). Tale effetto appare in parte dose-dipendente. Nella maggior parte dei casi la funzione renale tende a ristabilizzarsi dopo i primi sei mesi. Tuttavia in alcuni casi si può avere una progressione verso l'insufficienza renale cronica.

Ipertensione arteriosa

L'ipertensione arteriosa è una complicanza relativamente comune (60-70% dei casi) dopo trapianto di fegato in soggetti il cui regime immunosoppressivo sia basato sull'utilizzo di Ciclosporina A o FK506.^{191,192,193} L'origine di tale ipertensione è multifattoriale. È caratterizzata principalmente da un'elevazione delle resistenze vascolari periferiche e dall'attivazione del sistema renina-angiotensina-aldosterone, ma appare verosimile che altri meccanismi sistemici e/o locali siano coinvolti, come ad es. un'alterazione della regolazione centrale della pressione arteriosa. Non è ancora chiaro se l'ipertensione arteriosa sia dovuta ad un effetto diretto di Ciclosporina A o FK506 sul distretto vasale sistemico oppure sia conseguenza di un danno renale acuto o cronico.^{194,195}

Quello che appare evidente è che la tossicità diretta da Ciclosporina o FK506 gioca un ruolo chiave perlomeno nella genesi di lievi alterazioni ipertensive, che possono trarre giovamento dalla semplice riduzione del dosaggio immunosoppressivo. Nella maggior parte dei casi però, per controllare adeguatamente i livelli pressori, è necessaria una terapia farmacologica antipertensiva specifica.

Il trattamento dell'ipertensione arteriosa nei pazienti trapiantati di fegato si avvale dell'uso di bloccanti adrenergici, vasodilatatori, bloccanti dell'enzima angiotensino-convertitore e di diuretici.

L'uso di calcio-antagonisti appare efficace nelle fasi precoci per ottenere immediate riduzioni della pressione arteriosa, ma la terapia a lungo termine è associata ad episodi di tachifilassi.

L'ipertensione arteriosa osservata nei pazienti trapiantati di fegato richiede comunque un trattamento aggressivo, in particolare nell'immediato post-operatorio, poiché anche moderati innalzamenti della pressione sanguigna in tali pazienti sono associati ad un'aumentata incidenza di complicanze neurologiche (in particolare emorragie cerebrali).

E importante ricordare, inoltre, l'effetto additivo sodio-ritentivo sull'innalzamento dei valori pressori, osservato in pazienti trattati con alte dosi di steroidi.

Scompenso cardiaco

Complicanze cardiovascolari di entità tale da mettere a repentaglio la vita del paziente trapiantato di fegato sono eventi piuttosto rari. Episodi di scompenso cardiaco o aritmie sono generalmente associati a stati di ipossia oppure ad alterazioni dell'equilibrio acido-base e/o degli elettroliti.¹⁹⁶ Complicanze cardiovascolari di natura iatrogena sono anche osservate in seguito al non appropriato posizionamento di linee venose centrali (ad es. emboli gassosi e tamponamenti pericardici da erosione).^{197,198}

Altro fattore importante nell'insorgenza di disfunzioni cardiocircolatorie clinicamente rilevanti dopo trapianto di fegato è la presenza di alterazioni cardiache in forma latente o non adeguatamente rilevate in fase di valutazione pre-trapianto del paziente. Tipico esempio è la miocardiopatia nei pazienti affetti da cirrosi alcolica.

Alterazioni polmonari

Le complicanze polmonari sono un problema piuttosto comune nell'immediato post-trapianto.^{199,200} Generalmente si tratta di alterazioni transitorie, facilmente trattabili e con scarse o nulle conseguenze sulla sopravvivenza del paziente o sul suo futuro stato respiratorio. Occasionalmente, tuttavia, serie complicazioni polmonari possono insorgere anche in assenza di fattori di rischio riconosciuti in fase pre-operatoria.

Un versamento pleurico destro transitorio è presente in quasi tutti i pazienti nell'immediato periodo post-operatorio.^{201,202}

Anche l'atelettasia focale destra rappresenta un evento piuttosto comune nel corso della prima settimana dopo il trapianto. Una rigorosa fisioterapia respiratoria è generalmente sufficiente per risolvere la complicanza.

Pneumotorace ed emotorace sono complicanze tipicamente iatrogene, conseguenti al posizionamento di cateteri venosi centrali, all'esecuzione di biopsie epatiche percutanee, di colangiografie trans-epatiche o di venografie.²⁰³

Considerato l'alto numero di fattori di rischio associati alla procedura operatoria, l'insorgenza di ARDS (Acute Dystress Respiratory Syndrome) è un evento inaspettatamente poco comune in pazienti trapiantati di fegato. Massive trasfusioni di sangue ed emoderivati, infezioni, sovraccarico idrico, prolungati tempi chirurgici e stati ipotensivi sono comunque invariabilmente associati a tale complicanza.²⁰⁴

Alterazioni ematologiche

Anemia, trombocitopenia e leucopenia sono eventi caratteristici nel periodo post-operatorio. L'anemia generalmente riflette le perdite ematiche subite durante la fase operatoria ed è facilmente correggibile mediante trasfusioni di sangue.

La conta piastrinica tende a scendere sotto 50.000/ml entro 1-5 giorni dal trapianto di fegato per poi riportarsi lentamente ma progressivamente ai valori normali. Episodi di trombocitopenia si possono osservare come conseguenza di infezioni da CMV, di coagulazione intravascolare disseminata (CID), di trasfusioni di sangue od emoderivati, o di mielodepressione secondaria alla somministrazione di farmaci quali Azatioprina, 5-flucitosina e Ganciclovir. Una leucopenia con conta inferiore a 2.000/ml è tipicamente presente entro i primi 2 giorni dopo il trapianto come fenomeno da diluizione nel caso in cui siano state necessarie numerose trasfusioni durante l'intervento. La leucopenia è più spesso associata alla somministrazione di Azatioprina, Interferon od altri farmaci mielo-tossici. Nel caso in cui la riduzione del dosaggio di tali farmaci non sia sufficiente a ripristinare livelli ematici ottimali, l'utilizzo di granulochine (fattori stimolanti la produzione midollare di globuli bianchi e piastrine) appare efficace nel controllare tali complicanze.

Alterazioni neuropsichiatriche

L'insorgenza di alterazioni neurologiche (in primo luogo l'encefalopatia) è un evento che frequentemente complica una malattia epatica in fase terminale e non sorprende il fatto che rappresenti una seria minaccia anche nel paziente dopo il trapianto.^{205,206,207,208} Lo stato neurologico del paziente è uno dei fattori determinanti non solo nel monitoraggio della buona funzionalità del fegato trapiantato, ma anche nell'ambito dell'efficacia della terapia intensiva.^{209, 210} Tra le complicanze neurologiche maggiormente osservate dopo trapianto di fegato vanno ricordate le alterazioni dello stato mentale (fino all'80% dei casi), convulsioni (fino al 30%) e deficit motori focali (circa 15%).

Nonostante i notevoli progressi raggiunti nell'ambito del trapianto di fegato, le convulsioni, lo stato confusionale, i tremori e l'insonnia sono complicanze frequentemente riscontrate nei pazienti trapiantati. Sebbene sia la Ciclosporina A che l'FK506 siano state indicate quali maggiori responsabili dell'insorgenza di tali complicanze neurologiche, la patogenesi appare multifattoriale dal momento che shock, sepsi, insufficienza epatica, rigetto, insufficienza renale, alterazioni elettrolitiche, emorragie ed altri farmaci potenzialmente neurotossici sono alternativamente associati nel causare (o predisporre a) tali alterazioni neurologiche.^{211,212,213} La tossicità da farmaci rappresenta comunque un fattore preminente, come dimostrato dalla riduzione o addirittura dalla scomparsa dei sintomi neuropsichici e delle alterazioni della materia bianca in seguito alla riduzione dei dosaggi terapeutici di Ciclosporina o FK506, anche quando i livelli ematici risultino entro i valori di norma.^{214,215,216}

L'insorgenza di convulsioni è spesso associata ad ipo-magnesemia ed ipocalcemia in soggetti trattati con Ciclosporina A, sebbene un'esatta relazione con il farmaco non sia mai stata ben verificata.^{217,218}

La patogenesi della mielinolisi pontina cerebrale è ancora poco chiara tuttavia, secondo alcuni autori, fluttuazioni eccessive delle concentrazioni sieriche di sodio in fase post-trapianto sembrano essere correlate con un aumentato rischio di insorgenza di tale complicanza. La mielinolisi pontina

centrale dovrebbe essere quantomeno sospettata ogniqualvolta un paziente sviluppi alterazioni neurologiche focali o dello stato mentale alcuni giorni dopo trapianto di fegato.^{219,220}

Nel post-trapianto la frequente presenza di difficoltà nell'ottenere una precisa diagnosi eziologica di fronte ad un problema neurologico suggerisce la necessità di una ancor più accurata valutazione preoperatoria del paziente candidato al trapianto di fegato, per escludere la possibilità che l'alterazione neurologica osservata non sia una manifestazione di un'anormalità pre-esistente in forma latente.

Alterazioni metaboliche ed elettrolitiche

Alterazioni elettrolitiche sono invariabilmente presenti, perlomeno in modo transitorio, in pazienti sottoposti a trapianto di fegato.²²¹ Generalmente, importanti alterazioni elettrolitiche e metaboliche sono pre-esistenti alla procedura operatoria, essendo parte integrante del quadro clinico di una malattia epatica in fase avanzata. In una condizione emodinamica caratterizzata da aumentati livelli di sodio e di acqua e da diminuiti livelli di potassio, si instaura un meccanismo di "adattamento renale" che tende a persistere per un periodo variabile e contribuisce a rendere più difficoltoso il mantenimento di normali livelli idro-elettrolitici nel post-trapianto. Inoltre ad un quadro già di per sé compromesso si vanno ad aggiungere altri fattori quali trasfusioni di sangue, infusione di fluidi, ventilazione meccanica ed una varietà di farmaci che possono alterare profondamente la composizione ed il volume dei fluidi corporei.

Alcalosi metabolica, ipocloremia ed iperpotassiemia sono tipicamente evidenti entro 24-48 ore dal trapianto di fegato. Il citrato di sodio, contenuto come conservante nelle emazie e nel plasma fresco congelato, viene metabolizzato in bicarbonato quando il nuovo fegato comincia a funzionare ed il plasma fresco congelato a sua volta è carente di cloro. Dal momento che ciascuna unità di sangue contiene circa 20 g di citrato di sodio, è facilmente spiegabile come trasfusioni massive possano ampiamente condizionare l'assetto idro-elettrolitico nel post-operatorio^{222,223}. Un'iperpotassiemia è spesso riscontrata nell'immediato post-operatorio ed è generalmente secondaria alla alta concentrazione di potassio negli emoderivati e nella soluzione di conservazione dell'organo.

L'iperglicemia rappresenta un'alterazione metabolica piuttosto frequente durante la prima settimana dopo il trapianto di fegato e richiede un monitoraggio continuo.²²⁴ Nella maggior parte dei casi si tratta di sequele di una preesistente alterazione del metabolismo glucidico che tende poi a risolversi spontaneamente con la ripresa funzionale del nuovo fegato. Il 5% dei pazienti trapiantati di fegato, tuttavia, sviluppa un diabete mellito insulino-dipendente che richiede l'instaurazione di terapia insulinica a lungo termine. La Ciclosporina A, l'FK506 e gli steroidi possono a loro volta indurre diabete insulino-dipendente.

L'osteoporosi rappresenta un'altra importante complicanza metabolica che colpisce in particolare i pazienti con malattia epatica colestatica (tipicamente, cirrosi biliare primitiva). I fattori che contribuiscono all'aggravamento (o anche all'instaurarsi) dell'osteoporosi sono soprattutto la terapia corticosteroidica ad alte dosi, la prolungata immobilizzazione, l'aumento di citochine (Interleuchina 1), l'insufficienza renale e l'aumentata attività osteoclastica associata ad una diminuita attività osteoblastica presenti in fase post-trapianto. Circa l'80% dei pazienti affetti da malattie colestatiche che presentano importanti alterazioni osteoporotiche in fase pre-trapianto risultano essere soggetti ad una o più fratture ossee entro i primi 6 mesi successivi al trapianto di fegato. D'altro canto, circa

l'85% dei soggetti presenta un miglioramento significativo dei valori di densitometria ossea ad un anno dal trapianto di fegato.

Alterazioni dell'apparato digerente

La iperplasia gengivale è una rara complicanza che insorge dopo trapianto di fegato. Si ritiene che rappresenti un effetto collaterale della Ciclosporina, benché il meccanismo patogenetico non sia ancora chiaro. La crescita abnorme della mucosa gengivale, oltre a rappresentare un problema di natura estetica, può arrivare ad interferire con la masticazione ed a causare infezioni del cavo orale.

Nei casi in cui la riduzione del dosaggio della Ciclosporina A non sia sufficiente a far regredire l'ipertrofia gengivale, la resezione chirurgica della mucosa eccedente rappresenta l'unica opzione terapeutica disponibile.

Con i miglioramenti delle tecniche chirurgiche e grazie all'utilizzo di nuovi e potenti farmaci per la profilassi della malattia peptica è fortemente diminuito il numero delle complicanze del tratto gastroenterico, quali sanguinamenti gastrici o duodenali ed ulcere peptiche e da stress, spandimenti biliari e perforazioni. La diagnosi precoce di enteriti da citomegalovirus o da Candida permette di prevenire le complicanze di tali infezioni, più frequenti in passato, quali perforazioni, sanguinamenti massivi o ulcere cecali.

La pancreatite acuta clinicamente rilevante è un'evenienza particolarmente infrequente dopo trapianto di fegato, sebbene la presenza di modesto ileo sentinella, associato a moderata iperamilasemia (< 500 IU/L), possono essere osservati nell'immediato post-operatorio. Tali fenomeni sembrano essere conseguenza di manipolazioni intra-operatorie del pancreas, piuttosto che rappresentare un reale episodio di pancreatite acuta. Tuttavia rarissimi casi di pancreatite emorragica o necrotica insorti nel periodo peri-operatorio sono stati associati ad HBs antigenemia e la sopravvivenza in questi casi è molto bassa.

Complicanze Infettive

Le infezioni possono manifestarsi con vaga sintomatologia sistemica o con saltuarie cefalee o lievi alterazioni dello stato mentale e febbre, oppure con quadri più apertamente neurologici, quali convulsioni, emiparesi o fino al coma. Invece i segni e sintomi neurologici classici tipo meningismo o alterato stato di coscienza, osservati nei pazienti non immunodepressi, sono spesso mancanti nel paziente trapiantato e immunologicamente depresso.

La meningite e gli ascessi cerebrali micotici sono le più comuni infezioni del SNC nei pazienti trapiantati di fegato (frequenti la meningite da *Cryptococcus neoformans* e l'ascesso cerebrale da *Aspergillus*). Comunque anche altri microrganismi devono essere presi in considerazione quali: *Pneumococcus*, *Hemophilus influenzae*, *Meningococcus*, bacilli Gram-negativi e *Listeria monocytogenes*. Ascessi singoli o multipli sono spesso dovuti ad *Aspergillus* o a *Nocardia asteroides*, ma comunque è importante porre la diagnosi specifica in ogni singolo caso.^{225,226,227,228,229,230} La presentazione clinica dell'ascesso cerebrale non può essere subdola, infatti

tale diagnosi deve essere sempre sospettata in pazienti trapiantati di fegato che presentano improvvisamente disorientamento e/o episodi epilettici o sintomi neurologici di tipo focale.

La diagnosi viene confermata da TAC o RMN, che mostrano la presenza di singole o multiple lesioni focali ipodense, ed infine più specificamente dalla biopsia stereotassica della lesione. In presenza di lesione cerebrale focale, l'RX torace o persino la TAC toracica possono mostrare lesioni polmonari che spesso sono la fonte dell'agente patogeno (per es., *Aspergillus*), il quale secondariamente si localizza al SNC.

La causa della batteriemia nei pazienti trapiantati di fegato è spesso multifattoriale.²³¹ Nel periodo post-operatorio, i trapiantati possono presentare infezioni delle ferite, infezioni del tratto urinario da catetere, tromboflebiti da catetere venoso. Più frequentemente la fonte della batteriemia sono infezioni occulte delle vie biliari. In questi casi i batteri enterici Gram-negativi e gli enterococchi sono spesso identificati alle emocolture. Altre sedi comuni di origine di batteriemia nei trapiantati di fegato sono i polmoni, l'addome, la cute e i tessuti sottocutanei.^{232,233,234} La trombosi post-operatoria dell'arteria epatica o l'ostruzione delle vie biliari sono spesso un fattore di rischio per lo sviluppo di batteriemia nel post-operatorio. In alcuni casi di batteriemia la fonte però non è ovvia, e la sepsi da catetere, ascessi occulti (fegato, peritoneo, polmone), flebiti settiche ed endocarditi sono le cause più frequenti.^{235,236}

Le infezioni batteriche rappresentano il maggior limite al successo e alla sopravvivenza a lungo termine dei pazienti trapiantati di fegato.^{237,238}

Prendendo i dati delle casistiche maggiori, la maggior parte di tali pazienti presenta almeno un episodio infettivo nel corso dell'immediato post-operatorio. Le infezioni intraddominali e intratoraciche predominano nei trapiantati di fegato e, come incidenza temporale, si concentrano nelle prime 2-4 settimane dopo trapianto. I fattori di rischio che condizionano la loro frequenza sono: la durata dell'intervento chirurgico e i livelli pre-trapianto di bilirubinemia.²³⁹

Infezioni virali

Le infezioni virali sono molto frequenti dopo trapianto di fegato, in particolare gastroenteriti ed epatiti.^{240,241,242} La presenza di alterazioni dei test di funzionalità epatica dovrebbero sempre essere indagati con biopsia epatica. Tuttavia, le infezioni virali si possono manifestare dopo trapianto solo con febbre e in assenza di movimenti enzimatici epatici o di colestasi e talvolta solo con lievi sintomi aspecifici quali astenia. Un monitoraggio aggressivo è quindi raccomandabile per una corretta diagnosi. Esami culturali virologici e sierologia virale con misura dei titoli anticorpali sono importanti strumenti di diagnosi per queste infezioni. In definitiva, se la biopsia viene eseguita solamente quando indicata da anomalie laboratoristiche, molte diagnosi di infezione possono sfuggire.

1. Citomegalovirus (CMV)

Il CMV è la più frequente causa di infezione nel post-trapianto di fegato e si osserva in genere tra le 4 e le 8 settimane successive.^{243,244,245,246} L'infezione da CMV può derivare sia da riattivazione di una pre-esistente infezione latente sia da un'infezione ex novo.

Quest'ultima è più frequentemente sintomatica e può causare sia infezioni localizzate ad organi specifici (epatite, gastroenterite), sia forme disseminate con coinvolgimento multisistemico. La principale fonte di infezione primaria (ex novo) nei trapiantati di fegato è l'organo del donatore.

Circa l'80% dei pazienti trapiantati con sierologia negativa per il CMV che ricevono un organo da donatore CMV-positivo sviluppano infezione da CMV dopo trapianto. Questo in contrasto con il 5% di frequenza di infezione nei pazienti CMV-negativi che ricevono un organo da donatore CMV-negativo. Le riattivazioni di infezione da CMV sono più spesso asintomatiche od oligo-sintomatiche e raramente interessano l'organo trapiantato. L'incidenza globale dell'infezione da CMV nei pazienti trapiantati di fegato è del 50-60%, con aumento fino al 70-80% in pazienti che ricevono un organo da paziente sierologicamente CMV-positivo. L'infezione post-trapianto è meno frequente nel bambino rispetto all'adulto per la più bassa prevalenza di CMV nella popolazione pediatrica.

Il quadro clinico di infezione da CMV può essere suddiviso in quattro tipi distinti:²⁴⁷

- a) *sindrome virale*, caratterizzata da evidenza laboratoristica di infezione da CMV associata a sintomi quali febbre, malessere generale, astenia, artralgie. La leucopenia e/o la piastrinopenia con la febbre sono in genere presenti precocemente;
- b) *polmonite da CMV*, caratterizzata da sintomi respiratori ed ipossiemia associati ad infiltrati polmonari bilaterali di tipo interstiziale;
- c) *enterite da CMV*, con coinvolgimento più spesso del duodeno e dello stomaco. I pazienti possono presentare nausea e vomito con evidenza endoscopica di iperemia o erosioni, ulcere aftoidi, pliche edematose o perfino ampie ulcerazioni a bordi rilevati;
- d) *epatite da CMV*, che è frequente nei trapiantati di fegato. Il profilo biochimico è caratterizzato da quadro epatitico colestatico con elevazione delle transaminasi da 3 a 10 volte la norma. Simili alterazioni si possono riscontrare anche in presenza di rigetto d'organo, e quindi il profilo delle transaminasi non aiuta nel differenziare le due patologie. L'epatite fulminante da CMV è un evento rarissimo.

L'infezione da CMV dovrebbe essere sospettata ogni volta che in un trapiantato c'è il riscontro di febbre ed dei sintomi descritti in precedenza a circa un mese dal trapianto. La diagnosi di infezione primitiva da CMV viene posta nel paziente sintomatico in cui la sierologia pre-trapianto fosse negativa e nel quale venga isolato il virus.^{248,249} Il paziente ha un titolo sierologico negativo per CMV (non ha anticorpi contro il virus) ed in genere diventa sieropositivo successivamente (sviluppa anticorpi contro il CMV). Invece nella riattivazione dell'infezione il paziente aveva avuto in passato un'infezione da CMV asintomatica o meno, infatti presenta anticorpi contro il CMV. In questi casi il virus si riattiva da solo o un nuovo tipo di virus viene acquisito in genere dall'organo del donatore.

L'infezione da CMV può essere sintomatica (come descritto in precedenza con febbre, epatite, polmonite, ecc.) o asintomatica. In quest'ultimo caso, il virus viene coltivato da vari liquidi biologici ma il paziente non ha disturbi né presenta sintomi e segni compatibili con l'infezione.

I due agenti antivirali attualmente disponibili per trattare le infezioni da CMV sono il ganciclovir (DHPG) e il foscarnet,^{250,251,252} entrambi somministrati per via endovenosa, il primo a dosi di 5 mg/kg ogni 12 ore, monitorando la conta cellulare (effetto collaterale: inibizione del

midollo con neutropenia), mentre il secondo a dosi di 60 mg/kg ogni 8 ore, controllando la funzionalità renale (effetto collaterale: nefrotossicità).

2. Herpes Simplex (HSV) e Varicella Zoster (VZV)

Le infezioni da HSV tipo 1 e 2, e da VZV si possono osservare in qualsiasi momento dopo il trapianto, sebbene più frequentemente le infezioni da HSV avvengono precocemente (prime 2 settimane) e le seconde in fasi più tardive (dopo alcuni mesi).^{253,254} Con l'uso routinario della profilassi con Aciclovir, l'incidenza di queste infezioni si è ridotta notevolmente. Analogamente a quanto avviene per il CMV, l'infezione può essere sia primitiva (più grave) che da riattivazione. Le infezioni da HSV si presentano in genere come mucositi con lesioni del cavo orale o dei genitali, e rispondono bene al trattamento con aciclovir. La maggior parte di queste infezioni è da riattivazione di un virus latente analogamente a quanto avviene per il VZV. Quest'ultimo tende a colpire un distretto cutaneo con distribuzione localizzata al territorio innervato da un nervo periferico specifico, e si presenta con lesioni tipo rash cutanei. Raramente queste infezioni virali si disseminano per via sistemica con coinvolgimento multiorgano per dare quadri settici con pericolo di morte.

Le infezioni disseminate da HSV, in contrasto con quelle localizzate, si manifestano con febbre, tracheo-bronchite, broncopolmonite e segni bioumorali di danno epatico associate a lesioni cutanee. La biopsia epatica è essenziale per una diagnosi di epatite da HSV. Per prevenire la mortalità di questa forma grave di infezione la terapia con Aciclovir deve essere iniziata precocemente e continuata per 10-14 giorni, a dosi di 10 mg/kg ev ogni 8 ore.

3. Virus di Epstein-Barr (EBV)

Le infezioni da EBV, così come da CMV, sono caratterizzate da un'alta prevalenza nella popolazione adulta, da una latenza del virus in individui con precedente infezione e dalla tendenza alla riattivazione in condizioni di immunosoppressione fisiologica o farmacologica.^{255,256} Queste infezioni nei pazienti trapiantati possono causare sindromi cliniche che vanno dalla lieve sintomatologia simil-mononucleosi a condizioni gravi con rischio della vita quali la sindrome linfoproliferativa.

Le più frequenti malattie causate da EBV dopo trapianto di fegato sono:

- a) mononucleosi;
- b) epatite;
- c) sindrome linfoproliferativa (LPS).

La mononucleosi dopo OLT in genere si presenta circa 7-8 mesi dopo l'operazione ed è tipicamente caratterizzata dalla presenza di linfadenopatia cervicale o generalizzata associata a febbre, faringite e splenomegalia. Artralgie, rash cutanei, versamenti articolari, encefalite, polmonite ed ascite sono invece rari, mentre lieve anemia, leucopenia con predominanza linfocitica, e piastrinopenia sono presenti nella maggior parte dei casi.

L'epatite da EBV dopo trapianto è caratterizzata da aumento delle transaminasi che vanno da 2 a 5 volte la norma associate ad alterazioni dei marcatori di colestasi, quali fosfatasi alcalina e γ GT. L'epatomegalia non è sempre presente e l'ittero si presenta in circa la metà dei casi. La

diagnosi specifica si pone con la sierologia dell'EBV che dimostra l'aumento di 4 volte del titolo anticorpale anti-VCA (antigene del capsido virale) di tipo IgG nel caso di riattivazione di infezione latente, o la comparsa di anticorpi di tipo IgM anti-EA (antigene precoce) oppure anti VCA. L'esame istologico o l'esame con PCR (reazione della catena polimerasica) per la ricerca del DNA del EBV può essere anche utilizzata per porre una diagnosi specifica.

Le sindromi linfoproliferative in genere si presentano dopo i primi 6 mesi dal trapianto di organi.^{257,258} Gli organi più comunemente colpiti sono: fegato, milza, tonsille (particolarmente nei bambini) ed intestino.²⁵⁹ Per la diagnosi, il tessuto viene studiato con tecniche immuno-istochimiche mediante l'utilizzo di immunoglobuline o di marcatori per i linfociti di tipo B. Anche in questi casi il trattamento è quello della drastica riduzione o interruzione della terapia immunosoppressiva e alte dosi di aciclovir (10 mg/kg ogni 8 ore con funzionalità renale conservata).^{260,261}

Infezioni da miceti

Le infezioni da funghi nei trapiantati di fegato hanno una frequenza dal 16 al 42%, che risulta essere più elevata rispetto ad altri pazienti trapiantati con organi diversi dal fegato. La maggior parte delle infezioni fungine hanno il picco di incidenza nel primo periodo postoperatorio (entro i primi 2 mesi), derivano come sede di partenza dalla microflora endogena dell'orofaringe o del tratto gastrointestinale e possono essere germi commensali, quali *Candida*. Sebbene l'incidenza di candidosi sistemica nei trapiantati di fegato sia diminuita notevolmente negli ultimi anni, rimane ancora un importante problema clinico in molti centri trapianto.

Alcuni fattori di rischio sono stati identificati come predisponenti allo sviluppo di infezioni fungine sistemiche dopo trapianto di fegato, quali ad es.: a) la debilitazione generalizzata dell'epatopatia cronica; b) la malnutrizione; c) l'iper-alimentazione; d) il prolungato uso di antibiotici; e) la terapia immunosoppressiva, in particolare l'uso di steroidi; f) l'uso di cateteri a permanenza; g) il diabete mellito; h) il tipo di intervento chirurgico, in particolare quando coinvolge il tratto digerente.^{262,263,264,265}

1. *Candida*

La più frequente infezione da funghi nel post-operatorio è la candidosi.

Nelle candidosi sistemiche la presenza di funghi nel sangue è evidenziabile solo nel 28% dei casi. La diagnosi differenziale tra infezione attiva e semplice contaminazione è spesso molto difficile, specie quando i campioni biologici sono ottenuti da vari tubi di drenaggio (toracici, addominali, kehr, ecc.) i quali spesso sono contaminati da *Candida*. La diagnosi di candidosi sistemica è invece più affidabile quando il germe viene isolato da cavità sterili quali quella peritoneale o pleurica, o quando l'invasione tissutale viene dimostrata sui campioni istologici. La candidosi sistemica o invasiva è una malattia grave caratterizzata da elevata mortalità, che può raggiungere anche il 77%. Molti centri trapianto ancora oggi utilizzano la profilassi con nistatina per la candidosi, sebbene i risultati preliminari sembrano dimostrare la migliore efficacia del fluconazolo.

2. *Cryptococcus neoformans*

È il germe che può causare meningite con una certa frequenza nei trapiantati di fegato. In circa il 40% dei casi la malattia è associata alla presenza simultanea di una localizzazione polmonare del criptococco, dalla quale sembra che l'agente patogeno si diffonda per via ematica al sistema nervoso centrale. Il primo segno della criptococcosi sistemica può essere rappresentato da lesioni cutanee, quali ulcere o noduli non dolenti, che possono precedere anche di mesi il coinvolgimento neurologico.

Nei casi di meningite criptococcica il liquor presenta caratteristicamente la riduzione dei leucociti (inferiore a 500) con linfocitosi relativa, lieve aumento delle proteine, riduzione dei livelli di glucosio e positività dell'antigene criptococcico. L'amfotericina B con o senza flucitosina dovrebbe essere somministrata per 6 settimane, con dosaggi di 0,7 mg/kg/die ev, e con riduzione del dosaggio se viene associata a flucitosina. Il trattamento richiede il monitoraggio periodico del liquor e contemporaneamente dei livelli sierici dell'antigene criptococcico. La prognosi infausta è associata a persistenti livelli elevati di antigene nel liquor e da emocolture positive.

3. *Aspergillus*

È un fungo ubiquitario che può causare infezioni invasive o sistemiche nell'ospite compromesso, come il paziente trapiantato. Gli stessi fattori generali di rischio per le infezioni fungine già descritti in precedenza sono validi anche per le aspergillosi. In aggiunta, nel post-trapianto di fegato sembrano essere importanti anche: a) l'eccessiva immunosoppressione, che accelera la disseminazione dell'aspergillo; b) il prolungamento dell'assistenza ventilatoria dopo l'operazione; c) l'insufficienza epatica che predispone di per sé alle infezioni da aspergillo. Le aspergillosi in genere avvengono precocemente dopo trapianto e si presentano con un primitivo infiltrato polmonare che poi si diffonde al sistema nervoso centrale per via ematica.²⁶⁶

Infezioni parassitarie (opportunistiche)

1. *Toxoplasma gondii*

È un parassita che può essere responsabile di encefalopatia non specifica, meningoencefalite diffusa o lesioni focali cerebrali progressive singole o multiple. La toxoplasmosi dopo trapianto di organi può derivare sia da infezione primitiva che da riattivazione di infezione latente precedentemente contratta. L'infezione ha un picco di incidenza nel periodo intermedio del post-trapianto, cioè tra 1 e 6 mesi dopo l'operazione²⁶⁷. La presentazione clinica può essere subdola, con febbre isolata e persistente senza apparente fonte di origine, oppure con sintomi di malattia disseminata con coinvolgimento pluri-viscerale (cuore, polmone e sistema nervoso centrale). Le manifestazioni neurologiche della toxoplasmosi del sistema nervoso centrale includono: disturbi visivi, dolore oculare retrobulbare, cefalea, fotofobia, convulsioni e diversi altri segni di danno neurologico.

La terapia specifica richiede l'uso combinato di Sulfadiazina a dosi di 75-100 mg/kg e pirimetamina 25 mg per os in 4 somministrazioni giornaliere.

2. Pneumocistis carinii

La polmonite da *Pneumocistis carinii* si riscontra nel 5-10% dei trapiantati di fegato e il suo esordio in genere si osserva dopo i primi 2 mesi dall'intervento. Clinicamente è caratterizzata da dispnea e tosse secca l'esame radiologico del torace può essere completamente negativo. Tipicamente però la malattia produce infiltrati interstiziali bilaterali simili alla polmonite da citomegalovirus. Il trattamento consiste nella somministrazione di Trimetoprim-Sulfametossazolo per 2 settimane ev a dosi di 5 mg/kg ogni 6 ore o Pentamidina im o ev a dosi di 4 mg/kg/die.

Poiché la diagnosi di infezioni opportunistiche dopo trapianto di fegato non è sempre di facile intuizione, i quadri clinici d'esordio e le loro manifestazioni dovrebbero essere ben conosciuti dal medico. Ciò per poter istituire rapidamente la terapia antimicrobica specifica, fondamentale per combattere tali infezioni in modo efficace.

Graft Versus Host Disease

Nelle linee guida dell'ASFA si parla della Graft-versus-host disease (GVHD) successiva a trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche (HSCT). Tuttavia si riscontra anche in altri tipi di trapianto.

La GvHD è costituita da due entità clinicamente distinte e con patogenesi differente: la forma acuta (rigetto acuto) e quella cronica (rigetto cronico). La forma acuta è causata dall'attacco da parte dei linfociti T immunocompetenti o null del donatore rivolto verso gli antigeni di istocompatibilità del ricevente. I linfociti null possono attaccare gli antigeni "condivisi" dal ricevente e dal donatore e sono linfociti auto citotossiche che possono produrre GVHD in riceventi di trapianti identici.

Rigetto Acuto

Il rigetto di fegato trapiantato è un'inflammazione dell'organo indotta da un'incompatibilità antigenica tra donatore e ricevente che interessa primariamente i dotti biliari e l'endotelio vascolare, incluse le vene portalì, le venule epatiche e occasionalmente l'arteria epatica ed i suoi rami.²⁶⁸

Diagnosi

Il rigetto acuto si manifesta in genere da 5 giorni a 6 settimane dopo il trapianto.²⁶⁹ È necessario distinguere il rigetto "biologico" dal rigetto "clinicamente rilevante".

- Rigetto biologico: è la reazione del sistema immune del ricevente al fegato trapiantato, è riproducibile in modelli animali sottoposti a trapianto epatico e talvolta precede l'adattamento del ricevente all'organo trapiantato, c'è evidenza istologica del rigetto.
- Rigetto clinicamente rilevante: è caratterizzato dalla concomitanza di evidenza istologica di rigetto e di segni biochimici di danno epato-biliare e, talvolta, di manifestazioni cliniche; richiede terapia immunosoppressiva addizionale.

Sul piano clinico il rigetto acuto può decorrere in modo clinicamente silente (i sintomi sono generalmente assenti nel rigetto lieve-moderato). Se clinicamente manifesto possono essere presenti febbre, malessere, sub-ittero, epatomegalia. Nei pazienti con drenaggio biliare esterno la produzione di bile è diminuita e la bile appare di colore pallido. I segni biochimici del rigetto acuto sono un aumento degli indici di colestasi (bilirubina totale, ALP, GGT) e degli indici di citonecrosi (ALT, AST). Frequentemente si associano leucocitosi ed eosinofilia. Le alterazioni biochimiche e cliniche sono tuttavia mancanti di sensibilità e specificità e la diagnosi richiede necessariamente una conferma istologica.

Fattori che possono frequentemente confondere la diagnosi di rigetto acuto comprendono:

- una biopsia di dimensioni inadeguate (occorre esaminare almeno 5 spazi portalì);
- l'incremento della terapia immunosoppressiva poco prima dell'esecuzione della biopsia (il quadro istologico può apparire sfumato e non essere diagnostico);

- nelle prime settimane dopo il trapianto, la concomitanza di danno da preservazione o di problemi anastomotici (vascolari o biliari); nelle fasi successive, la recidiva di epatite HCV o di epatopatia autoimmune.

Prevalenza

La prevalenza degli episodi di rigetto acuto dopo trapianto epatico varia dal 24 al 70% in relazione ai criteri di diagnosi utilizzati, ai protocolli istologici e al regime immunosoppressivo attuato. La percentuale dei pazienti con rigetto acuto moderato-grave (RAI >6) varia dal 2 al 22%.^{270,271}

Rigetto Cronico

Si definisce rigetto cronico un danno del fegato trapiantato su base immunologia che esiti in un danno irreversibile dei dotti biliari, delle arterie e delle vene epatiche.²⁷² Esso può rappresentare l'evoluzione di un rigetto acuto grave o persistente, oppure esordire spontaneamente.

Diagnosi

Il rigetto cronico può manifestarsi sin dalle fasi relativamente precoci post-trapianto (in un arco variabile dai 60 ai 90 giorni) e portare alla perdita dell'organo entro 4-12 mesi²⁷³, ovvero comparire più tardivamente. La diagnosi deriva sempre dalla valutazione combinata del quadro clinico, laboratoristico, radiologico e istopatologico. Essa deve essere sempre sospettata in un paziente che, eventualmente dopo uno o più episodi di rigetto acuto grave-moderato, sviluppi una colestasi ingravescente non risponsiva al trattamento immunosoppressivo.

Si distinguono tre quadri clinici di presentazione:

- 1) evoluzione da un episodio di rigetto acuto non risolto,
- 2) evoluzione dopo episodi ricorrenti di rigetto acuto,
- 3) forma tardiva indolente senza una chiara diagnosi di episodio acuto (spesso associata a una terapia immunosoppressiva inadeguata).

Sul piano bio-umorale il rigetto cronico è caratterizzato prevalentemente da un aumento progressivo degli indici di colestasi (ALP, g-GT). Nella fase di esordio del rigetto cronico da un rigetto acuto non risolto può essere presente una persistente elevazione delle transaminasi (ALT, AST).

In particolare la AST è un buon indice di rigetto cronico in presenza di una persistente elevazione di 3-4 volte i valori normali. Con il progredire del danno epatico compaiono iperbilirubinemia ed alterazione della protidosintesi.²⁷⁴ Poiché il quadro clinico e biochimico di questi pazienti non è specifico, occorre una attenta diagnosi differenziale con altre condizioni quali colestasi da stenosi delle vie biliari intra o extraepatiche, o stenosi o trombosi dell'arteria epatica.²⁷⁵

Le alterazioni istologiche tipiche del rigetto cronico possono manifestarsi in modo non uniforme (prevalenza del danno biliare od arteriolare, o della fibrosi perivenulare) e presentare una evoluzione variabile nel tempo. Il quadro istopatologico non è sempre in grado di definire la

irreversibilità del rigetto cronico. In particolare la duttopenia, anche in presenza di iperbilirubinemia o di evidente colestasi, può essere reversibile indipendentemente dalle variazioni della terapia immunosoppressiva.

Fattori che possono confondere la diagnosi di rigetto cronico comprendono:

- le colangiopatie destruenti ed altre cause di duttopenia non associate al rigetto,
- un danno vascolare del microcircolo non associato al rigetto,
- la recidiva di epatite virale specialmente se con carattere col estatico.

Prevalenza

La prevalenza degli episodi di rigetto cronico dopo trapianto epatico, riportata pari al 10-20% negli anni 80, si è ridotta al 3-5% negli anni più recenti, probabilmente per il miglioramento delle terapie immunosoppressive.²⁷⁶

I seguenti sono stati segnalati come fattori di rischio di rigetto cronico:

- numero degli episodi di rigetto acuto,
- gravità degli episodi di rigetto acuto (in terapia con ciclosporina ma non con tacrolimus),
- rigetto acuto tardivo,
- età del ricevente (riceventi più giovani = maggiore incidenza di rigetto),
- età del donatore > 40 anni,
- mismatch maschio-femmina,
- ricevente di razza non caucasica,
- diagnosi di epatite autoimmune o di malattia biliare,
- farmaci utilizzati nella terapia immunosoppressiva di base,
- istocompatibilità (controversa),
- infezione da CMV (controversa).

Immunotolleranza nel Trapianto di Fegato

Nei primi giorni dopo il trapianto i leucociti del donatore costituiscono 1-20% delle cellule mononucleate circolanti nel paziente ricevente. Questo pool di leucociti comprende le cellule staminali totipotenti e le cellule dendritiche. Dopo circa 2 settimane queste lasciano l'organo trapiantato, ove sono rimpiazzate da cellule analoghe del ricevente, e si dirigono verso gli organi linfatici. Dopo circa 3 mesi sono riscontrabili nel tessuto non linfatico, come per esempio miocardio e cute (*microchimerismo*).

Lo studio pisano: dati e risultati

Fotoferesi e Trapianti di Fegato: Protocolli Sperimentali

Originariamente introdotta per il trattamento del linfoma cutaneo a cellule T e delle malattie autoimmunitarie, la fotoferesi extracorporea (ECP) risulta essere efficace negli episodi acuti di rigetto cardiaco, polmonare e renale, nonché per il trattamento acuto e cronico della graft-versus-host disease (GVHD). Nella letteratura scientifica troviamo solo articoli aneddotici che descrivono l'uso della fotoferesi in protocolli immunosoppressivi per il trapianto di fegato o per il trattamento del rigetto acuto del fegato.²⁷⁷

I primi studi riguardanti l'impiego della fotoferesi nel trapianto epatico sono stati eseguiti a Pisa e hanno portato alla formulazione di alcuni protocolli in diversi campi.

Il primo campo di applicazione della fotoferesi riguarda il cosiddetto "avoiding CNI (Inibitori della calcineurina) protocol", grazie al quale nel trapianto di fegato è stato possibile introdurre un'immunosoppressione alternativa con la fotoferesi per ritardare l'introduzione degli Inibitori della calcineurina in 18 riceventi ad alto rischio.²⁷⁸ In questa maniera sarebbe possibile gestire al meglio la tossicità indotta dai CNI senza mettere in pericolo il successo del trapianto e i tassi di sopravvivenza dei pazienti nel corso dell'immediato post-operatorio quando l'immunosoppressione è al suo apice, e l'attecchimento e il recupero del paziente sono ancora incompleti. Infatti gli inibitori della calcineurina fanno parte della terapia immunosoppressiva di riferimento usata attualmente nei trapianti di fegato. Si tratta di una terapia che presenta vari effetti collaterali soprattutto a livello renale e neurologico, che possono impattare nell'immediato post-trapianto e nel periodo successivo, e risulta influire negativamente nella sopravvivenza a lungo termine.²⁷⁹ Tutti i riceventi vennero inseriti nell'"avoiding CNI protocol", posticipando l'introduzione dei CNI. Nel 33,3% dei pazienti, i CNI sono stati introdotti anche a distanza di 8 giorni dal trapianto, mentre un paziente non ha avuto bisogno di iniziare la terapia con i CNI. Questi dati preliminari vennero confermati in una coorte successiva di 24 riceventi ad alto rischio. Pertanto, la fotoferesi sembra essere uno strumento promettente per ridurre l'impatto della mortalità correlata ai CNI nel corso del post trapianto.

Il secondo campo in cui la fotoferesi è stata esplorata è il cosiddetto "ABO-incompatible protocol" per la profilassi del rigetto cellulare acuto nei pazienti adulti trapiantati di fegato.²⁸⁰ Nel nostro studio pilota, nessuno degli 11 pazienti sottoposti a fotoferesi con protocollo immunosoppressivo triplo comprendente steroidi, mofetil micofenolato (MMF) e tacrolimus (TAC), con induzione con anticorpi anti-CD25, ha sviluppato un episodio di rigetto acuto dopo un follow-up mediano di 568 giorni.

Il terzo potenziale campo di applicazione della fotoferesi riguarda la modulazione dell'immunosoppressione nel contesto critico dei pazienti HCV-positivi (positivi per il virus dell'epatite C) il cui fegato danneggiato dalla recidiva del virus mostra un trend verso una rapida progressione di malattia. È ormai opinione comune che la recidiva grave è relazionata all'età del donatore e all'alta immunosoppressione che viene utilizzata per cercare di tenere sotto controllo il rigetto.²⁸¹ Pertanto, è ragionevole aspettarsi che riducendo i livelli di immunosoppressione in questi pazienti potrebbe migliorare l'efficacia del trattamento antivirale con interferone e ribavirina e quindi aumentare la sopravvivenza del trapianto.

La necessità di affrontare la questione della recidiva dell'HCV è stata sottolineata anche dai dati dell'European Liver Transplant Registry che mostrano un costante aumento dell'età media dei donatori di organi associato con un peggioramento del trend delle sopravvivenze dell'organo trapiantato tra i pazienti HCV-positivi.²⁸² In particolare, la diminuzione della sopravvivenza diventa evidente quando il donatore ha superato i 40 anni di età. Così, da gennaio 2004, è stato introdotto un "HCV-protocol", che prevede l'utilizzo della fotoferesi nella profilassi del rigetto acuto.

Un case-report pubblicato nel 2007 ha messo in evidenza come sia pensabile una strada verso il trapianto di fegato ABO incompatibile grazie all'uso combinato di plasmaferesi, immunoglobuline e fotoferesi.²⁸³

Questo dato è stato supportato da uno studio del 2008 svoltosi su un campione di 8 pazienti sottoposti a questi trattamenti combinati.²⁸⁴

La fotoferesi ha inoltre migliorato significativamente la mortalità a breve termine di riceventi HCV+ trapiantati con organi più vecchi, grazie ad un'immunosoppressione bassa e costante in combinazione con una terapia antivirale preventiva.²⁸⁵

Spinti da questi risultati incoraggianti, il gruppo di Pisa sta continuando a d applicare questi tre protocolli nel trapianto di fegato, con denominatore comune il miglioramento delle terapie a disposizione del paziente trapiantato.²⁸⁶

I trapianti di fegato in Italia

In Italia nel periodo compreso tra il 2000 e il 2010 sono stati effettuati 10471 trapianti di fegato, con un lieve ma stabile trend in salita. Di questi ben 1000 (9,6%) sono stati effettuati a Pisa, seconda solo a Torino con 1515 trapianti.

Centro Trapianti	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
AN - A.O. TORRETTE - UMBERTO I	0	0	0	0	0	11	31	33	30	46	42
BA - AO POLICLINICO	20	20	24	22	19	14	15	16	19	16	22
BG - OSPEDALI RIUNITI	51	65	76	76	88	82	85	88	60	85	77
BO - S.ORSOLA-MALPIGHI	85	77	76	77	74	103	92	83	81	73	83
CA - A. O. G.BROTZU	0	0	0	0	15	30	25	31	25	22	22
GE - AO S.MARTINO	47	52	33	44	49	50	42	28	34	27	30
MI - IST.NAZ.LE CURA TUMORI	16	24	28	31	27	27	27	28	27	34	31
MI - MAGGIORE POLICLINICO	36	40	35	33	31	39	35	32	37	39	42
MI - O CA' GRANDA-NIGUARDA	50	50	51	58	55	51	57	67	50	72	62
MO - POLICLINICO	10	38	38	39	33	52	45	51	59	44	43
NA - AO A. CARDARELLI	18	27	43	36	67	58	61	53	44	56	41
PA - ISMETT	13	24	22	41	72	58	78	70	70	71	58
PD - AZIENDA OPEDALIERA	61	73	89	79	71	75	72	73	73	63	71
PI - AO PISANA	71	66	65	79	99	90	119	95	105	116	95
RM - A UMBERTO I	35	33	33	29	31	22	25	26	24	28	17
RM - AZ.OSP. SAN CAMILLO-FORLANINI	0	1	11	23	36	24	33	27	27	27	19
RM - OSPEDALE PEDIATRICO BAMBINO GESU'	-	-	-	-	-	-	-	-	3	15	15
RM - POLICLINICO A. GEMELLI	12	16	24	21	27	24	22	23	25	21	17
RM - AZ. OSP. UNIV. POLICLINICO TOR VERGATA	22	30	30	25	29	21	23	29	23	21	21
TO - AO S.GIOVANNI BATTISTA	148	125	121	118	145	164	146	138	135	133	142
UD - POLICLINICO UNIV.	35	30	29	25	36	30	33	33	30	34	33
VR - AZIENDA OSPED.	-	-	2	12	13	26	22	17	13	17	18
ITALIA	730	791	830	868	1017	1051	1088	1041	994	1060	1001

Centro Trapianti	2000-10 **	proporzionale al Numero di Trapianti
AN - A.O. TORRETTE - UMBERTO I	193	<div></div>
BA - AO POLICLINICO	207	<div></div>
BG - OSPEDALI RIUNITI	833	<div></div>
BO - S.ORSOLA-MALPIGHI	904	<div></div>
CA - A. O. G.BROTZU	170	<div></div>
GE - AO S.MARTINO	436	<div></div>
MI - IST.NAZ.LE CURA TUMORI	300	<div></div>
MI - MAGGIORE POLICLINICO	399	<div></div>
MI - O CA' GRANDA-NIGUARDA	623	<div></div>
MO - POLICLINICO	452	<div></div>
NA - AO A. CARDARELLI	504	<div></div>
PA - ISMETT	577	<div></div>
PD - AZIENDA OPEDALIERA	800	<div></div>
PI - AO PISANA	1000	<div></div>
RM - A UMBERTO I	303	<div></div>
RM - AZ.OSP. SAN CAMILLO-FORLANINI	228	<div></div>
RM - OSPEDALE PEDIATRICO BAMBINO GESU'	33	<div></div>
RM - POLICLINICO A. GEMELLI	232	<div></div>
RM - AZ. OSP. UNIV. POLICLINICO TOR VERGATA	274	<div></div>
TO - AO S.GIOVANNI BATTISTA	1515	<div></div>
UD - POLICLINICO UNIV.	348	<div></div>
VR - AZIENDA OSPED.	140	<div></div>
ITALIA	10471	

Dati forniti dal sito ufficiale del Centro Nazionale Trapianti: <http://www.trapianti.salute.gov.it/>

Dato estremamente rilevante è l'incremento dell'utilizzo di organi provenienti da donatori di età superiore ai 70 anni. Come si nota dalla tabella sottostante il numero di trapianti realizzatosi grazie a donatori over 70 è passato da 12 (18 %) nel 2001 a ben 48 (51%) nel 2010.

Anno	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	Totale
Trapianti effettuati	66	66	79	99	90	119	95	105	116	95	930
Donatori over 70	12	12	25	33	35	46	33	42	55	48	341

La collaborazione tra la U.O. di Trapiantologia Epatica e l'U.O. di Medicina Trasfusionale e Biologia dei Trapianti è iniziata nel 2001 con l'uso della fotoferesi in pazienti resistenti ad un trattamento immunosoppressivo con steroidi che manifestavano segni di rigetto cronico. Successivamente si sono sviluppati nuovi approcci terapeutici, volti alla ricerca di un equilibrio tra il rischio di perdita dell'organo e il rischio di complicazioni indotte dai farmaci. Da studi precedenti è emerso che è possibile modificare la terapia nei pazienti trapiantati e ad alto rischio di complicanze, senza aumentare il rischio di perdita dell'organo trapiantato grazie all'introduzione della fotoferesi.

Grazie a tutti i dati raccolti dal 2001 al 2010 abbiamo potuto fare uno studio retrospettivo isolando e studiando il campione dei pazienti a cui è stato trapiantato un organo over 70, ponendo particolare attenzione agli effetti prodotti dal trattamento fotoferetico eseguito solo su quasi metà di questi.

Inoltre la mole di dati prodotti ha permesso di confermare gli effetti benefici della fotoferesi anche nel campione di pazienti che hanno ricevuto un fegato più giovane.

Pazienti e metodi

I trapianti di fegato effettuati tra il 2001 e il 2010 sono stati 930, di cui 341 utilizzando un organo proveniente da un donatore di età superiore o uguale ai 70 anni. Questo studio analizzerà con particolare attenzione il sottogruppo "over 70" mettendo in evidenza gli effetti positivi della fotoferesi.

Caratteristiche del gruppo studio

Il gruppo studio, che per comodità chiameremo A1, è costituito da 133 pazienti di età al momento del trapianto compresa tra i 38 e i 66 anni con una media di 54 anni e deviazione standard 6,6. Il rapporto maschi a femmine è di circa 4:1 (107:26).

I principali motivi di introduzione della fotoferesi nel programma terapeutico sono stati i seguenti:

- Ritardare l'introduzione in terapia degli inibitori della calcineurina in pazienti ad alto rischio di sviluppare complicanze renali e/o neurologiche,
- Prevenzione del rigetto di un organo AB0 incompatibile nel post-trapianto,

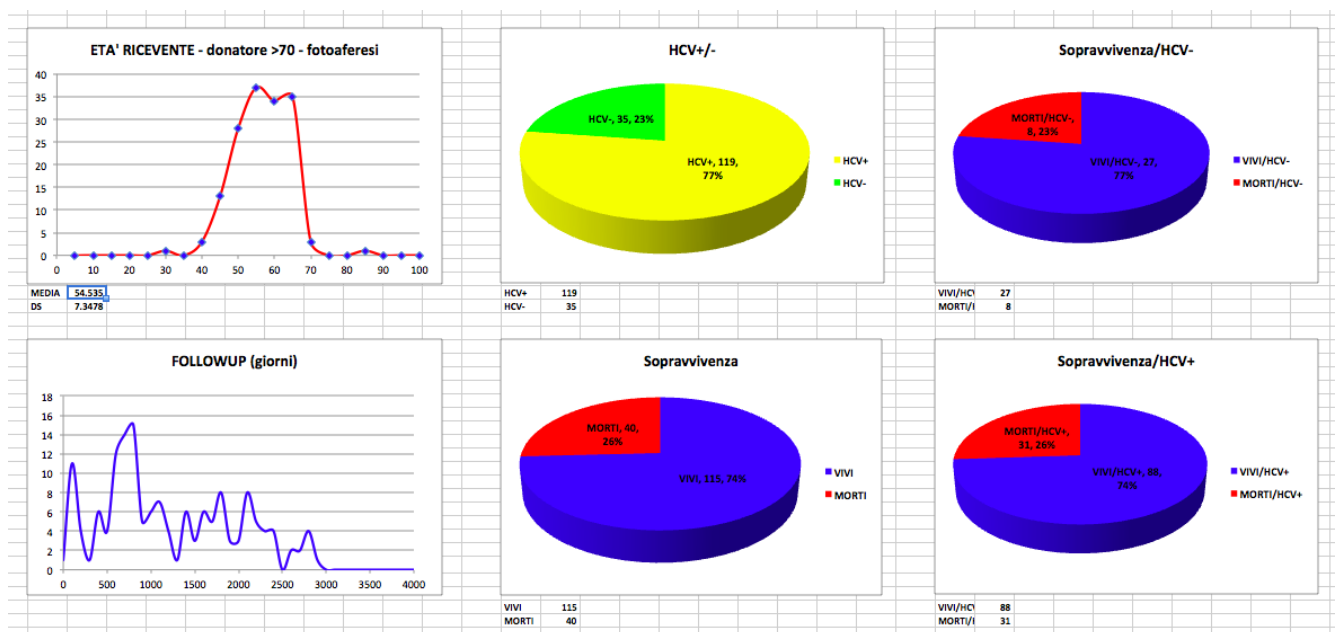
- Riduzione dell'immunosoppressione nei pazienti HCV positivi.

Le diagnosi principali che hanno portato al trapianto sono state:

- HCV (98 pz),
- HBV (11 pz),
- ETOH (10 pz),
- HCC (6 pz).

I restanti pazienti erano affetti da epatite fulminante e cirrosi dismetabolica.

Questi pazienti hanno avuto un follow-up medio di 1230 giorni (2-2823) al termine del quale 113 erano ancora in vita e 20 (15%) deceduti per recidiva di HCC (3 pz), recidiva di HCV (12 pz), HCC (2 pz), pancreatite acuta post-ERCP (1 pz), recidiva alcolica (1 pz).



Gruppo A1. Pazienti che hanno ricevuto un organo over 70 e che sono stati sottoposti a fotoferesi.

Calendario procedure

I pazienti sottoposti a trapianto di fegato sono stati indirizzati nei vari protocolli in base alle caratteristiche del loro profilo patologico, e sono stati sottoposti a cicli di fotoferesi secondo i seguenti calendari:

- Avoiding CNI protocol:
 - Il protocollo prevede che i trattamenti fotoferetici inizino in seconda giornata post-trapianto, quindi in quarta, sesta e tredicesima giornata per continuare con una seduta una volta a settimana.
- ABO-incompatible protocol:
 - Il protocollo prevede che i trattamenti fotoferetici inizino in seconda giornata post-trapianto, quindi in sesta e tredicesima giornata per continuare con una seduta una volta a settimana.
- HCV protocol:

- Il protocollo prevede che i trattamenti fotoferetici inizino in seconda giornata post-trapianto, quindi in quarta, sesta e tredicesima giornata per continuare con una seduta una volta a settimana.

Caratteristiche gruppo di controllo

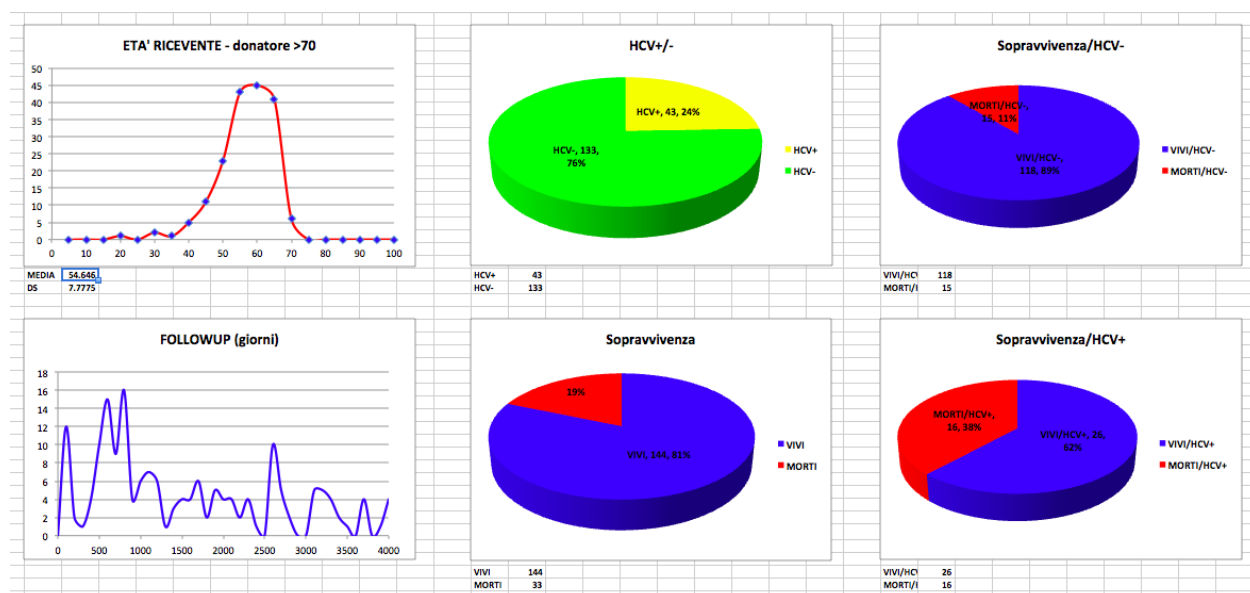
Il gruppo di controllo (A2, pazienti che non hanno beneficiato della fotoferesi) è costituito da 134 pazienti di età al momento del trapianto compresa tra i 19 e gli 70 anni con una media di 55 anni e deviazione standard di 8. Il rapporto maschi a femmine è di circa 3:1 (100:34).

Le diagnosi principali che hanno portato al trapianto sono state:

- HBV (48 pz),
- HCC (26 pz),
- ETOH (21 pz),
- HCV (14 pz),
- CBP –cirrosi biliare primitiva- (8 pz),
- Cirrosi criptogenetica (5 pz),
- Cirrosi dismetabolica (4 pz),
- Epatite fulminante (4 pz).

I restanti pazienti erano affetti da insufficienza epatica fulminante e cirrosi autoimmune.

Questi pazienti hanno avuto un follow-up medio di 1471 giorni (12-3282), al termine del quale 127 erano ancora in vita e 7 (5,2%) deceduti per complicanze infettive (1 pz), recidiva di HCV (4 pz), infarto miocardico acuto (1 pz).



Gruppo A2. Pazienti che hanno ricevuto un organo over 70 e che non sono stati sottoposti a fotoferesi.

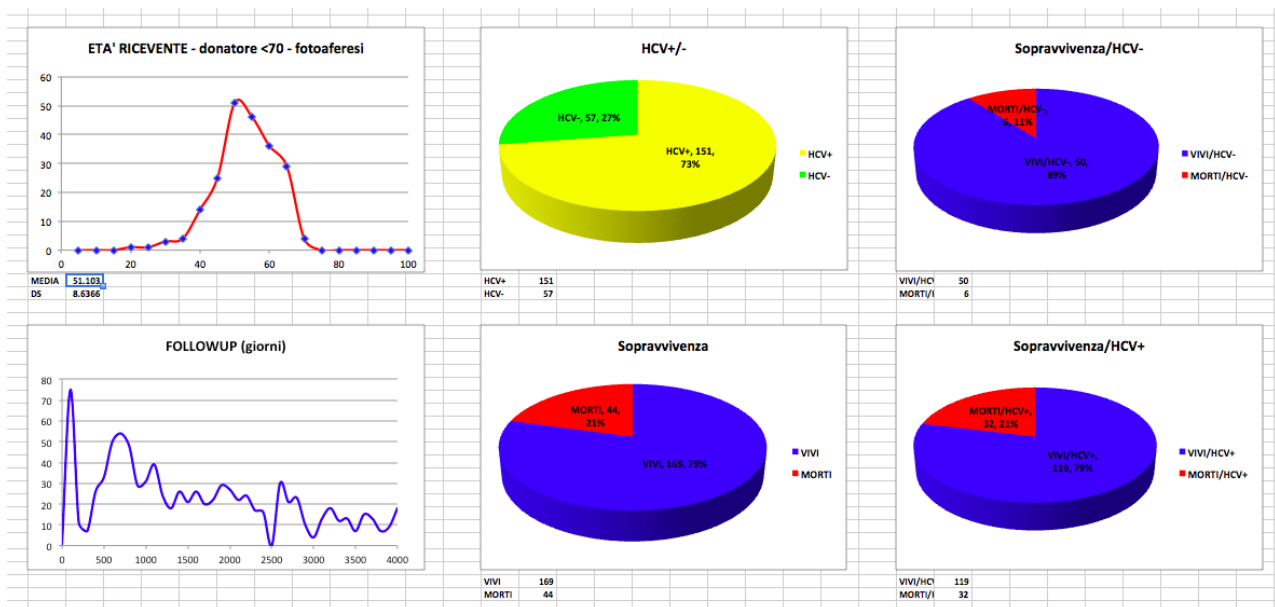
Gruppo dei pazienti con organo donato inferiore ai 70 anni

Per valutare il rendimento dell'organo over 70 è utile confrontare i risultati ottenuti in questo campione di pazienti con quello che invece ha ricevuto un fegato più giovane.

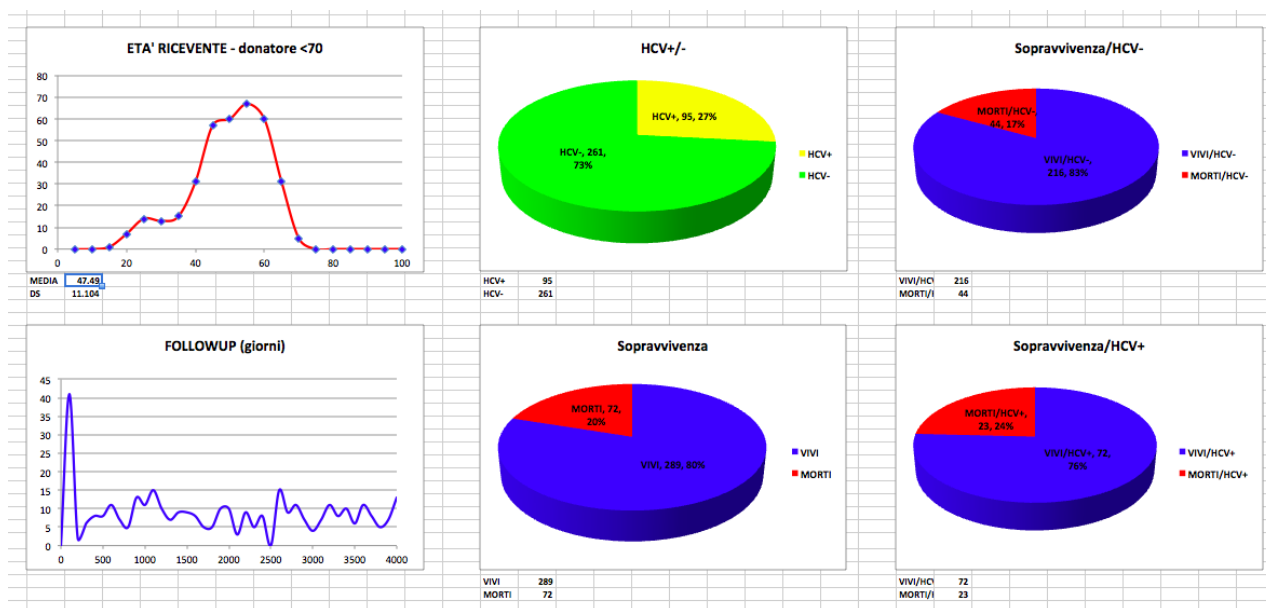
Per evitare bias, il gruppo dei pazienti che hanno ricevuto un fegato giovane è stato suddiviso in due sottogruppi, uno solo dei quali ha beneficiato di procedura fotoferetica.

Questa ulteriore divisione ci ha permesso di rivalutare gli effetti benefici della fotoferesi anche nel campione di pazienti che hanno ricevuto un fegato più giovane.

Per comodità chiameremo questi gruppi B1 (pazienti che hanno ricevuto un organo giovane e che sono stati sottoposti a fotoferesi) e B2 (pazienti che hanno ricevuto un organo giovane ma non sono stati sottoposti a fotoferesi).



Gruppo B1. Pazienti che hanno ricevuto un organo giovane e che sono stati sottoposti a fotoferesi.



Gruppo B2. Pazienti che hanno ricevuto un organo giovane ma non sono stati sottoposti a fotoferesi.

Macchinari utilizzati per la fotoferesi

Le procedure fotoforetiche sono state eseguite prevalentemente con il circuito off-line costituito dal sistema Cobe Spectra per la linfo-monocito-afesi e dal sistema UVA PIT per la fotoattivazione. Il sistema on-line Therakos è stato preso in considerazione principalmente nei casi in cui si sono verificate difficoltà nel reperire due accessi venosi periferici.

Risultati

Analisi dei dati

I dati clinici dei pazienti sono stati elaborati attraverso l'utilizzo di un foglio di calcolo elettronico.

I parametri presi in considerazione sono stati i seguenti:

- dati anagrafici del paziente (sesso, età),
- epatopatia primitiva,
- stadio terminale di epatopatia che induce all'immissione in lista per il trapianto (model for end-stage liver disease MELD e D-MELD),^{287,288}
- categoria di appartenenza al UNOS (United Network for Organ Sharing),
- giorni di degenza nelle unità di Terapia Intensiva post-Trapianto e/o follow-up documentato (quando disponibile),
- dati chirurgici con speciale riferimento a: durata dell'ischemia a freddo (CIT) e della fase anepatica (AnPh), richiesta intraoperatoria di emocomponenti da trasfondere, uso di fattori procoagulanti, perdita totale di sangue, tempo di estubazione nella fase chirurgica (quando disponibile),
- stato dell'organo a 1, 6, 12 mesi dal trapianto (quando possibile).

I dati statistici riportati sono: range, media, deviazione standard, confronti tra percentuali di sopravvivenza riferite a campioni HCV+/HCV-. Tutti i dati personali dei pazienti sono trattati secondo la normativa in tema di protezione dei dati personali, D.Lgs 196/2003.

Tutti gli immunosoppressori impiegati in terapia sono stati introdotti come da indicazione posologica in maniera graduale per raggiungere il regime terapeutico prestabilito; questo al fine di non incorrere nel rischio di insorgenza di effetti tossici, considerando che i pazienti arruolati nel gruppo di studio si sono dimostrati più suscettibili a tali eventi. Per monitorare gli effetti collaterali sono routinariamente eseguiti gli esami per la valutazione delle funzionalità epatica e renale.

Le valutazioni sono effettuate alla 1°, 7°, 14° giornata post-operatoria, quindi al 1°, 2°, 3°, 6°, 12° mese dal trapianto.

Le prime due sedute fotoferetiche vengono eseguite nella U. O. di Terapia Intensiva post-trapianti in 2°, (4°) e 6° giornata post-operatoria. Successivamente, quando il paziente si è stabilizzato, le procedure vengono eseguite settimanalmente, fino al raggiungimento del dosaggio ottimale della terapia immunosoppressiva parenterale.

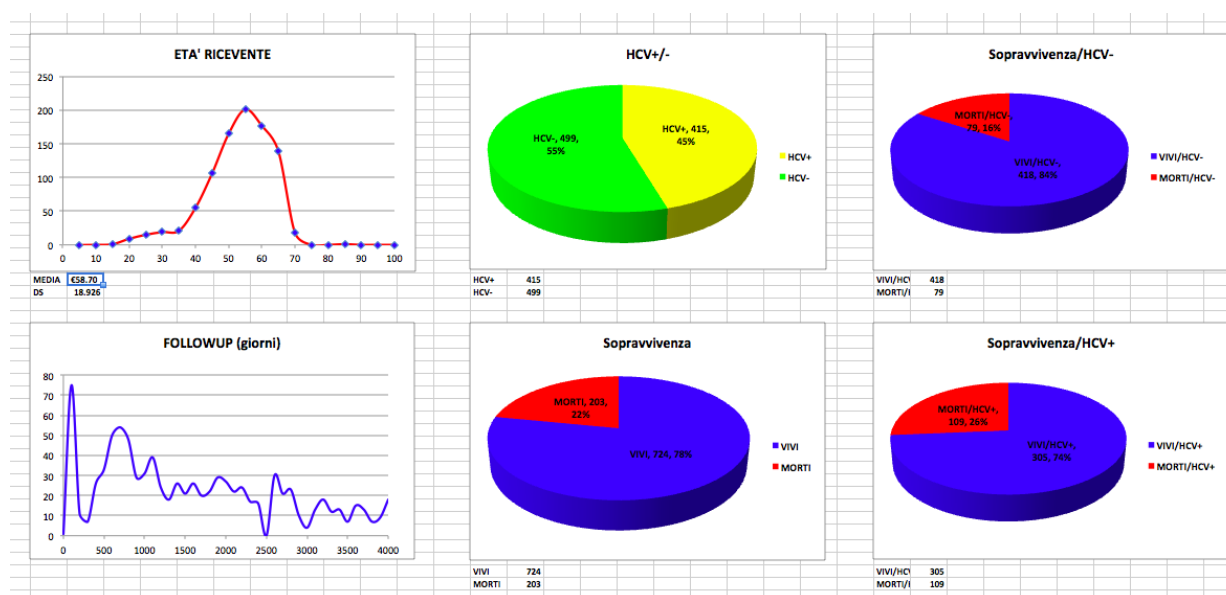
Le biopsie epatiche vengono eseguite quando se ne manifesta la necessità clinica e nel caso in cui durante la degenza si dimostrino evidenze di rigetto acuto, secondo il sistema di classificazione di Banff.

Conclusioni

Il tipo di studio effettuato è uno studio retrospettivo in quanto la documentazione raccolta è riferita al passato, ovvero preesistente alla decisione di iniziare lo studio; si tratta di osservazioni su pazienti sottoposti a trapianto di fegato, seguiti per un certo tempo osservando ove possibile il maggior numero di dati significativi (in particolar modo giorni di ricovero, follow-up, decessi).

Varie sono le problematiche che abbiamo dovuto affrontare. In primis la scelta dei sottogruppi (per es. pazienti HCV+) e dei controlli, in quanto il campione dei pazienti che hanno ricevuto un organo over 70 non era eterogeneo (in particolar modo per patologia che ha portato al trapianto, patologie concomitanti, età). Un bias importante è costituito dalla perdita di follow-up di un certo numero di pazienti, mentre per altri è tuttora in corso il suo aggiornamento.

Essendo inoltre uno studio durato dieci anni, ma ancora attivo in quanto a follow-up, non è disponibile un set di dati omogenei a causa di inserimento di nuovi parametri, variazione/soppressione di vecchi, differenti modalità di rilevazione degli stessi.



Nei gruppi sottoposti a fototerapia la percentuale di pazienti HCV+ è notevolmente superiore rispetto ai restanti sottogruppi (79% nel gruppo A1 versus 31% del gruppo A2, 75% del gruppo B1 vs 28% del gruppo B2). Nonostante questo dato peggiorativo dal punto di vista prognostico, sia per la patologia in sé sia per il profilo farmacologico impiegato, la sopravvivenza dei pazienti è superiore nei gruppi trattati con fototerapia.

Questi dati confermano quindi il notevole contributo apportato dalla procedura fototerapica.

Facendo infine un confronto tra i pazienti che hanno ricevuto un fegato over 70 e i pazienti che hanno ricevuto un fegato più giovane, è necessario mettere in evidenza la differenza di età dei riceventi. La media infatti dell'età dei pazienti che hanno ricevuto un fegato over 70 è di 55 anni, mentre la media dei pazienti che hanno ricevuto un fegato più giovane è di 49 anni. Inoltre anche la percentuale di pazienti HCV+ è superiore nel campione che ha ricevuto un fegato over 70.

Nonostante questi parametri (HCV+ ed età donatore e ricevente elevate) siano generalmente correlati ad una maggiore mortalità, la percentuale di sopravvivenza dei pazienti HCV+ che hanno ricevuto un fegato over 70 e beneficiato di trattamento fototerapico è risultata essere del 12% superiore rispetto a pazienti della stessa età e con stessa patologia non sottoposti a fototerapia.

Pur essendo la casistica esaminata abbastanza ricca e dettagliata si ritiene opportuno continuare nella raccolta dei dati, in particolar modo dei follow-up, in quanto è necessario validare questi risultati preliminari con tecniche statistiche più sofisticate.

Bibliografia

- ¹ Sheldon Swift, M.B., Ch.B., 8-Methoxypsoralen: A Short Review and Comment, California Medicine Vol. 92. NO. 2 * February 1960
- ² Egyptian Pharmacopoeia (1972) General Organization for Government Printing, Cairo, 32
- ³ Central Council for Research in Unani Medicine (1987) Standardisation of single drugs of Unani medicine– Part I. Ministry of Health and Family Welfare, New Delhi
- ⁴ Bradu, B.L and Atal, C.K 1970, Cultivation of ammi majus Linn. in Jammu Indian J. Pharm Sci 32 (6) 165-167
- ⁵ El-Mofty AM (1952) Further study on treatment of leucodermia with Ammi majus Linn. J R Egypt Med Assoc 35:1–19
- ⁶ Parrish JA (1974), Photochemotherapy of psoriasis with oral methoxsalen and long wave ultraviolet light. N Engl J Med 291:1207–1211. doi:10.1056/NEJM197412052912301
- ⁷ Fahmy, I. R., and Abu-Shady, H.: Isolation and properties of ammoidin, ammidin and majudin and their effect in treatment of leukodermia, Quart. J. Pharm. and Pharmacol., 21:499-503, Oct.-Dec. 1948
- ⁸ Fitzpatrick TB, Pathak MA. Historical aspects of methoxsalen and other furocoumarins. J Invest Dermatol. 1959;32(2, Part 2):229-31
- ⁹ Presentation Speech by Professor the Count K.A.H. Mörner, Rector of the Royal Caroline Institute, on December 10, 1903, http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1903/press.html
- ¹⁰ Silva MM et al, Fotoferese extracorpórea- Extracorporeal photopheresis, Revista brasileira de hematologia e hemoterapia 2008;30(2):153-161
- ¹¹ Lerner AB, Denton CR, Fitzpatrick TB. Clinical and experimental studies with 8-methoxypsoralen in vitiligo. J Invest Dermatol. 1953;20(4):299-314
- ¹² Parrish JA, Fitzpatrick TB, Tanenbaum L, Pathak MA. Photochemotherapy of psoriasis with oral methoxsalen and longwave ultraviolet light. N Engl J Med. 1974;291(23):1207-11
- ¹³ Gilchrest BA, Parrish JA, Tanenbaum L, et al. Oral methoxsalen photochemotherapy of mycosis fungoides. Cancer. 1976;38 (2): 683-9
- ¹⁴ Edelson R, Berger C, Gasparro F, et al. Treatment of cutaneous Tcell lymphoma by extracorporeal photochemotherapy. Preliminary results. N Engl J Med. 1987;316(6):297-303
- ¹⁵ Heald PW, Edelson RL. Photopheresis for T cell mediated diseases. Adv Dermatol. 1988;3:25-40
- ¹⁶ Child FJ, Ratnavel R, Watkins P, et al. Extracorporeal photopheresis (ECP) in the treatment of chronic graft-versus-host disease (GVHD). Bone Marrow Transplant. 1999;23(9):881-7
- ¹⁷ Menkes CJ, Andreu G, Heshmati F, Hilliquin P. Extracorporeal photochemotherapy. Br J Rheumatol. 1992;31(11):789-90
- ¹⁸ Rook AH, Freundlich B, Jegasothy BV, et al. Treatment of sistemi sclerosis with extracorporeal photochemotherapy. Results of a multicenter trial. Arch Dermatol. 1992;128(3):337-46
- ¹⁹ Knobler RM. Extracorporeal photochemotherapy for the treatment of lupus erythematosus: preliminary observations. Springer Semin Immunopathol. 1994;16(2-3):323-5
- ²⁰ Rook AH, Jegasothy BV, Heald P, et al. Extracorporeal photochemotherapy for drug-resistant pemphigus vulgaris. Ann Intern Med. 1990;112(4):303-5

-
- ²¹ de Misa RF, Azaña JM, Harto A, Ledo A. Extracorporeal photochemotherapy in the treatment of severe psoriatic arthropathy. *Br J Dermatol*. 1992;127(4):448
- ²² Prinz B, Nachbar F, Plewig G. Treatment of severe atopic dermatitis with extracorporeal photopheresis. *Arch Dermatol Res*. 1994; 287(1):48-52
- ²³ Guariso G, D'Inca R, Sturniolo GC, Zancan L, Dall'Amico R. Photopheresis treatment in severe Crohn disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2003;37(4):517-20
- ²⁴ Costanzo-Nordin MR, Hubbell EA, Successful treatment of heart transplant rejection with photopheresis, *Transplantation*. 1992 Apr;53(4):808-15
- ²⁵ Andreu G, Achkar A, Couetil JP, et al. Extracorporeal photochemotherapy treatment for acute lung rejection episode. *J Heart Lung Transplant*. 1995;14(4):793-6
- ²⁶ Horina JH, Müllegger RR, Horn S, et al. Photopheresis for renal allograft rejection. *Lancet*. 1995;346(8966):61
- ²⁷ Rook AH, Suchin KR, Kao DM, et al. Photopheresis: clinical applications and mechanism of action. *J Invest Dermatol Symp Proc* 1999;4:85–90
- ²⁸ Edelson RL. Photopheresis: a new therapeutic concept. *Yale J Biol Med* 1989;62:565–77
- ²⁹ Yoo EK, Rook AH, Elenitsas R, et al. Apoptosis induction of ultraviolet light A and photochemotherapy in cutaneous T-cell lymphoma: relevance to mechanism of therapeutic action. *J Invest Dermatol* 1996;107:235–42
- ³⁰ Heshmati F. Mechanisms of action of extracorporeal photochemotherapy. *Transfus Apher Sci* 2003;29:61–70
- ³¹ Peter Szodoraya, Gabor Pappb, Britt Nakkenc, Mariann Harangid, Margit Zeher: The molecular and clinical rationale of extracorporeal photochemotherapy in autoimmune diseases, malignancies and transplantation, *Autoimmunity Reviews*, Volume 9, Issue 6, April 2010, Pages 459–464
- ³² Mikaël Hivelin, Maria Siemionow, Philippe Grimbert, Laurent Lantieri: Extracorporeal photopheresis: From solid organs to face transplantation, *Transplant Immunology* 21 (2009) 117–128
- ³³ Dall' Amico R, Murer L. Extracorporeal photochemotherapy: a new therapeutic approach for allograft rejection. *Transfus Apher Sci* 2002;26:197–204
- ³⁴ Knobler R, Frensch LE, Kim E, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of photopheresis in systemic sclerosis. *J Am Acad Dermatol* 2006;54:793–9
- ³⁵ Greinix H, Volc-Platzer B, Kahls P, et al. Extracorporeal photochemotherapy in the treatment of severe steroid-refractory acute graft-versus-host disease: a pilot study. *Blood* 2000;96:2426–31
- ³⁶ Rook AH, Suchin KR, Kao DM, Yoo EK, Macey WH, DeNardo BJ, et al. Photopheresis: clinical applications and mechanism of action. *J Invest Dermatol Symp Proc* 1999;4:85–90
- ³⁷ Kleinclauss F, Perruche S, Masson E, Bittencourt M, Biichle S, Remy- Martin J-P, et al. Intravenous apoptotic spleen cell infusion induces a TGF-b-dependent regulatory T-cell expansion. *Cell Death Diff* 2006;13:41–52
- ³⁸ Albert ML. Death-defying immunity: do apoptotic cells influence antigen processing and presentation? *Nat Rev Immunol* 2004;4:223–31

-
- ³⁹ Lutz MB, Schuler G. Immature, semi-mature and fully mature dendritic cells: which signals induce tolerance and immunity? *Trends Immunol* 2002;23:445–9
- ⁴⁰ Rothlin CV, Ghosh S, Zuniga EI, et al. TAM receptors are pleiotropic inhibitors of the innate immune response. *Cell* 2007;131:1124–36
- ⁴¹ Lemke G, Rothlin CV. Immunobiology of the TAM receptors. *Nat Rev Immunol* 2008;8:327–36
- ⁴² Berger C, Xu A, Hanlon D, et al. Induction of human tumor-loaded dendritic cells. *Int J Cancer* 2001;4:438–47
- ⁴³ Hanlon DJ, Berger CL, Edelson RL. Photoactivated 8-methoxypsoralen treatment causes a peptide-dependent increase in antigen display by transformed lymphocytes. *Int J Cancer* 1998;78:70–5
- ⁴⁴ Spisek R, Gasova Z, Bartunkova J. Maturation state of dendritic cells during the extracorporeal photopheresis and its relevance for the treatment of chronic graft-versus-host disease. *Transfusion* 2006;46:55–65
- ⁴⁵ Maeda A, Schwarz A, Kernebeck K, et al. Intravenous infusion of syngeneic apoptotic cells by photopheresis induces antigen-specific regulatory T cells. *J Immunol* 2005;174:5968–76
- ⁴⁶ Gatza E, Rogers CE, Clouthier SG, et al. Extracorporeal photopheresis reverses experimental graft-versus-host disease through regulatory T cells. *Blood* 2008;112:1515–21
- ⁴⁷ Maeda A, Schwarz A, Kernebeck K, et al. Intravenous infusion of syngeneic apoptotic cells by photopheresis induces antigen-specific regulatory T cells. *J Immunol* 2005;174:5968–76
- ⁴⁸ Biagi E, Di Biaso I, Leoni V, et al. Extracorporeal photochemotherapy is accompanied by increasing levels of circulating CD4+CD25+ GITR+Foxp3+CD62L+ functional regulatory T-cells in patients with graft-versus-host disease. *Transplantation* 2007;84:31–9
- ⁴⁹ Knobler E, Warmuth I, Cocco C et al. Extracorporeal photochemotherapy – The Columbia Presbyterian experience. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2002; 18:232–7
- ⁵⁰ Gottlieb SL, Wolfe JT, Fox FE et al. Treatment of CTCL with extracorporeal photopheresis monotherapy and in combination with recombinant interferon alfa: a 10-year experience at a single institution. *J Am Acad Dermatol* 1996; 35: 946–57
- ⁵¹ Scarisbrick JJ, Taylor P, Holtick U et al. UK consensus statement on the use of extra-corporeal photopheresis for treatment of cutaneous T-cell lymphoma and chronic graft versus host disease. *Br J Dermatol* 2008; 158: 659–78
- ⁵² J. Klassen, The role of photopheresis in the treatment of graftversus- host disease, *Current Oncology*—Volume 17, Number 2 (2010)
- ⁵³ Scarisbrick J., Extracorporeal photopheresis: what is it and when should it be used?, *Clin Exp Dermatol*. 2009 Oct;34(7):757-60
- ⁵⁴ Pierelli L, Perseghin P, Marchetti M, Messina C, Perotti C, Mazzoni A, Bacigalupo A, Locatelli F, Carlier P, Bosi A; Società Italiana di Emaferesi and Manipolazione Cellulare (SIdEM) and Gruppo Italiano Trapianto Midollo Osseo (GITMO): Extracorporeal photopheresis for the treatment of acute and chronic graft-versus-host disease in adults and children: best practice recommendations from an Italian Society of Hemapheresis and Cell Manipulation (SIdEM) and Italian Group for Bone Marrow Transplantation (GITMO) consensus process, *Transfusion*. 2013 Jan 10. doi: 10.1111/trf.12059
- ⁵⁵ Jeffrey L. Winters, Apheresis Medicine State of the Art in 2010: American Society for Apheresis Fifth Special Edition of the Journal of Clinical Apheresis, *Journal of Clinical Apheresis* 26:239–242 (2011)

-
- ⁵⁶ Szczepiorkowski ZM, Bandarenko N, Kim HC, Linenberger ML, Marques MB, Sarode R, Schwartz J, Shaz BH, Weinstein R, Wirk A, Winters JL. Guidelines on the use of therapeutic apheresis in clinical practice-evidence-based approach from the Apheresis Applications Committee of the American Society for Apheresis. *J Clin Apher* 2007;22:106–175
- ⁵⁷ Guyatt G, Schünemann HJ, Cook D, et al. Applying the grades of recommendation for antithrombotic and thrombolytic therapy. *Chest* 2004; 126: S179-87.
- ⁵⁸ Pierelli L, Perseghin P, Marchetti M, Messina C, Perotti C, Mazzoni A, Bacigalupo A, Locatelli F, Carlier P, Bosi A; Società Italiana di Emaferesi and Manipolazione Cellulare (SIdEM) and Gruppo Italiano Trapianto Midollo Osseo (GITMO): Extracorporeal photopheresis for the treatment of acute and chronic graft-versus-host disease in adults and children: best practice recommendations from an Italian Society of Hemapheresis and Cell Manipulation (SIdEM) and Italian Group for Bone Marrow Transplantation (GITMO) consensus process, *Transfusion*. 2013 Jan 10. doi: 10.1111/trf.12059
- ⁵⁹ MANUALE DI ISTRUZIONE Pit System, ditta Med Tech Solution, s.r.l. Modena Italy
- ⁶⁰ MANUALE DI ISTRUZIONE Cobe , ditta Spectra BCT, Colorado USA
- ⁶¹ MANUALE DI ISTRUZIONE Therakos UVAR XTS Photopheresis System, ditta Therakos INC., Exton PA
- ⁶² Bianco I, Paolicchi A, Scatena F, Mazzoni A: NUOVI PROTOCOLLI TERAPEUTICI NEL TRAPIANTO DI FEGATO, 2006
- ⁶³ Mohd Hanafiah K, Groeger J, Flaxman AD, Wiersma ST: Global epidemiology of hepatitis C virus infection: New estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. *Hepatology*. 2012 Nov 21. doi: 10.1002/hep.26141
- ⁶⁴ Thomas DL, Seeff LB. Natural history of hepatitis C. *Clin Liver Dis* 2005; 9: 383e98. VI
- ⁶⁵ Simmonds P, Bukh J, Combet C, et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology* 2005; 42: 962e73
- ⁶⁶ Coral Lever, Kathryn L Nash: Hepatitis C, Liver Infections, 2011 Published by Elsevier Ltd, Medicine 39:9
- ⁶⁷ Lindenbach BD, Rice CM. Unravelling hepatitis C virus replication from genome to function. *Nature* 2005; 436: 933e8
- ⁶⁸ Alberti A, Et Al. Natural history of hepatitis C. *J Hepatol* 1999,31 (Suppl 1): 17-24
- ⁶⁹ Cooper, S, Erikson, AI, Adams, Ej Et Al. Analysis of a successful immune response against hepatitis C virus. *Immunity*, 1999; 10: 439-449
- ⁷⁰ Cooper S, Erikson AI, Adams Ej Et Al. Analysis of a successful immune response against hepatitis C virus. *Immunity*, 1999; 10: 439-449
- ⁷¹ Lechner F, Wong DKH, Dinbar PR, et al: Analysis of successful immune responses in persons infected with hepatitis C virus. *J.Exp.Med.* 2000;191:1499-1512
- ⁷² Lechner F, Gruener NH, Urbani S, et al: CD8+ T cell responses are induced during acute hepatitis C virus infection but are not sustained. *Eur.J.Immunol.* 2000;30:2479-2487
- ⁷³ Ferrari C, Valli A, Galati L, et al: T-cell response to structural and non-structural hepatitis C virus antigens in persistent and self-limited hepatitis C virus infections. *Hepatology*, 1994;19: 286-295
- ⁷⁴ Takaki A, Wiese M, Maertens G, et al: Cellular, immune responses persist and humoral responses decrease two decades after recovery from a single-source outbreak of hepatitis C. *Nature Medicine* 2000;6:578-582

-
- ⁷⁵ Botarelli P, Brunetto Mr, Minutello Ma et al: T-lymphocyte response to hepatitis C virus in different clinical courses of infection. *Gastroenterology*, 1993;104: 580-587
- ⁷⁶ Hoffmann Rm, Diepolder Hm, Zachoval R, et al. Mapping of immunodominant CD4+ T lymphocytes epitope of hepatitis C virus antigens and their relevance during the course of chronic infection. *Hepatology*, 1995;21:632-636
- ⁷⁷ Koziel Mj, Dudley D, Wong J, et al: Intrahepatic cytotoxic T lymphocytes specific for hepatitis C virus in persons with chronic hepatitis. *J Immunol.*, 1992;149: 3339-3344
- ⁷⁸ Koziel Mj, Dudley D, Afdhal N, et al: HLA class I restricted cytotoxic T lymphocytes specific for hepatitis C virus: identification of multiple epitopes and characterization of patterns of cytokines release. *J. Clin Invest.*, 1995;96:2311-2315
- ⁷⁹ Wong Dkh, Dudley Dd, Afdhal Nh, et al: Liver derived CTL in Hepatitis C virus infection: breadth and specificity of responses in a cohort of persons with chronic infection. *J Immunol.*, 1998;160:1479-1488.
- ⁸⁰ Nelson Dr, Marousis Cg, Davis GL, et al: The role of hepatitis C virus specific cytotoxic T lymphocytes in chronic hepatitis C. *J. Immunol.*, 1997; 158: 1473-1481.
- ⁸¹ Nelson Dr, Marousis Cg, Ohno T, et al. Intrahepatic Hepatitis C virus-specific cytotoxic T lymphocyte activity and response to interferon alfa therapy in chronic Hepatitis C. *Hepatology*, 1998; 28:225-230.
- ⁸² Minutello Ma, Pileri P, Unutmaz D et al. Compartmentalization of T-lymphocytes to the site of the disease: intrahepatic CD4+ T-cells specific for the protein NS4 of hepatitis C virus in patients with chronic hepatitis C. *J Exp Med*, 1993;178: 17-26.
- ⁸³ Schirren CA, Jung MC, Gerlach JT, et al: Liver-derived hepatitis C virus (HCV)-specific CD4+ T cells recognize multiple HCV epitopes and produce interferon gamma. *Hepatology* 2000;32:597-603
- ⁸⁴ International Consensus Conference on Hepatitis C. Consensus Statement. *J Hepatol* 1999;30: 956-961
- ⁸⁵ Petcharin S, Hutch S, Somyos D: Epidemiology of Liver Cancer: An Overview. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, Vol 5, 2004
- ⁸⁶ Okuda K, Fujimoto I, Hanai A, Urano Y: Changing incidence of hepatocellular carcinoma in Japan. *Cancer Res* 1987;47: 4967-4872
- ⁸⁷ Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA: Cancer statistics, 1998. *CA Cancer J Clin* 1998;48:6-29.
- ⁸⁸ El-serag HB, Mason AC: Rising incidence of hepatocellular carcinoma in the United States. *N Engl J Med* 1999;340: 745-750.
- ⁸⁹ AISF, Epidemiologia delle epatopatie acute e croniche in Italia. 1997.
- ⁹⁰ Simonetti RF, Camma, C, Fiorello F: Hepatitis C virus as a risk factor for hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. A case control study. *Ann Intern Med* 1992;116: 97-102.
- ⁹¹ Stroffolini T, Chiaramonte C, Tiribelli C: Hepatitis C virus infection, HBsAg carrier state and hepatocellular carcinoma: relative risk and population attributable risk from a case control study. *J. Hepatol.* 1992, 16, 360-363.
- ⁹² Chiaramonte m., Stroffolini T, Vian A, Stazi MA, Floreani A, Lorenzoni U, Lobbello S, Farinati F, Naccarato R: Rate of incidence of hepatocellular carcinoma in patients with compensated viral cirrhosis. *Cancer* 1999;85: 2132-2137.

-
- ⁹³ Bralet, Mp, Regimbeau Jm, Pineau P, Dubois S, Loas G, Degos F, Valla D, Belghiti J, Degott C, Terris B: Hepatocellular carcinoma occurring in nonfibrotic liver: epidemiologic and histopathologic analysis of 80 French cases. *Hepatology* 2000,32: 200-4.
- ⁹⁴ De Mitri, Ms, Poussin K, Baccarini P, Pontisso P, D'errico A, Simon N, Grigioni W, Aleri A, Beaugrand M, Pisi E, Brechot C, Paterlini P: HCV-associated liver cancer without cirrhosis. *Lancet* 1995,345: 413-415.
- ⁹⁵ Sheu Jc, Huang Gt, Chou HC: Multiple hepatocellular carcinomas at early stages have different clonality. *Gastroenterology* 1993,105: 1471-1476.
- ⁹⁶ Benvegnù L, Albert A: Different patterns of hepatocellular carcinoma (HCC) in patients with HBV and HCV related cirrhosis: a long term prospective study. *Antiviral Therapy* 2000,5 S1:75.
- ⁹⁷ Graziadei I: Liver transplantation organ allocation between Child and MELD. *Wien Med Wochenschr.* 2006 Jul;156(13-14):410-5. PMID: 16937044 [PubMed - in process].
- ⁹⁸ Peleman R.R., Gavaler J.S., Van Thiel D.H. et al.: Orthotopic liver transplantation for acute and subacute hepatic failure in adults. *Hepatology* 7:484-489
- ⁹⁹ Bismuth H., Samuel D., Gugenheim J. et al.: Emergency liver transplantation for fulminant hepatitis. *Ann, Intern. Med.* 107:337-341; 1987
- ¹⁰⁰ Ringe B., Pichmayr R., Lauchart W. et al.: Indication, and results of liver transplantation in acute hepatic failure. *Transplant Proc.* 18:Suppl 3:86-88; 1986
- ¹⁰¹ Christensen E., Bremmelgaard A., Bahnsen M. et al.: Prediction of fatality in fulminant hepatic failure. *Scand. j, Gastroenterol.* 19:90-96; 1984
- ¹⁰² Le Intossicazioni Da Funghi, a cura di Claudio Angelini, realizzato dall'Associazione AMINT (www.amint.it), <http://www.padova.infm.it/storti/pub/LE%20INTOSSICAZIONI%20DA%20FUNGHI.pdf>
- ¹⁰³ Starzl T.E., Demetris A.J., Van Thiel D.H.: Liver transplantation (part 1 and 2). *N. Engl. J. Med.* 321:1014-1022 and 1092-1099; 1989
- ¹⁰⁴ Bismuth H., Castaing D., Ericzon B.G. et al.: Hepatic transplantation in Europe. First report of the European Liver Transplant Registry. *Lancet* 2:674; 1987
- ¹⁰⁵ Otte J.B.: Recent Developments In Liver Transplantation. *J. Hepatol.* 12:386-393; 1991
- ¹⁰⁶ Samuel D., Benhamou J.P., Bismuth H. et al.: Criteria of selection for liver transplantation. *Transplant Proc.* 19:2383-2386; 1987
- ¹⁰⁷ Freeman R.B., Sanchez H., Lewis W.D. et al.: Serologic and DNA follow up data from HBsAg positive patients treated with orthotopic liver transplantation. *Transplantation* 51:793-797; 1991
- ¹⁰⁸ Blumhardt G., Neuhaus P., Bechstein W.O. et al.: Liver transplantation in HBsAg positive patients. *Transplant Proc.* 22:1517-1518; 1990
- ¹⁰⁹ Todo S., Demetris A.J., Van Thiel D.H. et al.: Orthotopic liver transplantation for patients with hepatitis B virus-related liver disease. *Hepatology* 13:619-626; 1991
- ¹¹⁰ Rizzetto M., Macagno S., Chiaberge E. et al.: Liver transplantation in hepatitis delta virus
- ¹¹¹ Dickson E.R., Grambsch P.M., Fleming T.R. et al.: Prognosis in primary biliary cirrhosis: model for decision making. *Hepatology* 10:1-7; 1989
- ¹¹² Neuberger J., Altman D.G., Christensen E. et al.: Use of a prognostic index in evaluation of liver transplantation for primary biliary cirrhosis. *Transplantation* 41:713-6; 1986

-
- ¹¹³ Neuberger J., Portmann B., Macdougall B.R.D. et al.: Recurrence of primary biliary cirrhosis after liver transplantation. *N. Engl. J. Med.* 306:1-4; 1982
- ¹¹⁴ Polson R.J., Portmann B., Neuberger J. et al.: Evidence for disease recurrence after liver transplantation for primary biliary cirrhosis. Clinical and histological follow-up studies. *Gastroenterology* 97:715-725; 1989
- ¹¹⁵ Esquivel C.O., Van Thiel D.H., Demetris A.J. et al.: Transplantation for primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 94:1207-1216; 1988
- ¹¹⁶ Haagsma E., Manns M., Klein R. et al.: Subtypes of antimitochondrial antibodies in primary biliary cirrhosis before and after orthotopic liver transplantation. *Hepatology* 7:129-133; 1987
- ¹¹⁷ Flavin D.K., Niven R.G., Kelsy J.E.: Alcoholism and orthotopic liver transplantation. *JAMA* 259:1546-1547; 1988
- ¹¹⁸ Starzl T.E., Van Thiel D.H., Tzakis A.G. et al.: Orthotopic liver transplantation for liver cirrhosis. *JAMA* 260:2542-2544; 1988
- ¹¹⁹ Kumar S., Stauber R., Gavaler J. et al.: Orthotopic liver transplantation for alcoholic liver diseases. *Hepatology* 11:159-164; 1990
- ¹²⁰ Larusso N.F., Wiesner R.H., Ludwig J. et al.: Primary sclerosing cholangitis. *N. Engl. J. Med.* 310:899-903; 1984
- ¹²¹ Marsh J.W.JR., Iwatsuki S., Makowka L. et al.: Orthotopic liver transplantation for primary sclerosing cholangitis. *Ann. Surg.* 207:21-28; 1988
- ¹²² Schrumpf E., Fausa O., Kolmannskog F. et al.: Sclerosing cholangitis in ulcerative colitis. *Scand. J. Gastroenterol.* 15:689-697; 1980
- ¹²³ Groth C.G., Ringden O.: Transplantation in relation to the treatment of inherited disease. *Transplantation* 38:319-327; 1984
- ¹²⁴ Starzl T.E.: Surgery for metabolic disease. In McDermott W.V.Jr., ed. *Surgery of the liver*. Oxford, Blackwell Scientific, pp.127-136; 1989
- ¹²⁵ Samuel D., Boboc B., Bernuau J. et al.: Liver transplantation for protoporphyria: evidence for the predominance role of the erythropoietic tissue in protoporphyrin overproduction. *Gastroenterology* 95:816-819; 1988
- ¹²⁶ Polson R.J., Lim C.K., Rolles K. et al.: The effect of liver transplantation in a 13-year-old boy with erythropoietic protoporphyria. *Transplantation* 46:386-389; 1988
- ¹²⁷ Bilheimer D.W., Goldstein J.L., Grundy S.M. et al.: Liver transplantation to provide low-density-lipoprotein receptors and lower plasma cholesterol in a child with homozygous familial hypercholesterolemia. *N. Engl. J. Med.* 311:1658-1664; 1984
- ¹²⁸ Hoeg J.M., Starzl T.E., Brewer H.B.: Liver transplantation for treatment of cardiovascular disease: comparison with medication and plasma exchange in homozygous familial hypercholesterolemia. *Am. J. Cardiol.* 59:705-707; 1987
- ¹²⁹ Rossaro L., Stumiolo G.C., Giacon G. et al.: Zinc therapy in Wilson's disease: observations in five patients. *Am.J. Gastroenterol.* 85:665-668; 1990
- ¹³⁰ Sokol R.G., Francis P.D., Gold S.H. et al.: Orthotopic liver transplantation. Acute, fulminant Wilson's disease. *J. Pediatr.* 107:549-552; 1985

-
- ¹³¹ Stemlied I.: Wilson's disease: indications for liver transplant. *Hepatology* 4:155-175; 1984
- ¹³² Polson R.J., Rolles K., Calne R.Y. et al.: Reversal of severe neurological manifestations of Wilson's disease following liver transplantation. *Q. J. Med.* 64:685-691; 1987
- ¹³³ Mitchell M.C., Boitnott J.K., Kaufman S. et al.: BuddChiari syndrome: etiology, diagnosis and management. *Medicine* 61:199-218; 1982
- ¹³⁴ Halff G., Todo S., Tzakis A.G. ET AL.: Liver transplantation for the Budd-Chiari syndrome. *Ann. Surg.* (in press)
- ¹³⁵ Campbell D.A.JR., Rolles K., Jamieson N. et al.: Hepatic transplantation with peri-operative and long term anticoagulation as treatment for Budd-Chiari syndrome. *Surg. Gynecol. Obstet.* 166:551-55
- ¹³⁶ Starzl TE (with the assistance of C.W. Putnam) :Experience in hepatic transplantation. Philadelphia: WB Saunders Company 1969;131-5.
- ¹³⁷ Calne RY, Williams R. LIVER: Transplantation in man. I. Observations on technique and organizations in five cases. *Br Med J* 1968;4:535-40.
- ¹³⁸ Starzl TE. History of clinical transplantation. *World J Surgery* 2000;24:759-82.
- ¹³⁹ Steinmuller T, Neuhaus P, et al. Increasing applicability of liver transplantation for patients with hepatitis B-related liver disease. *Hepatology* 2003;35(6):1529-35.
- ¹⁴⁰ Burra, P., Smedile, A., Angelico, M., Ascione, A., Rizzetto, M. On behalf of the study group on liver transplantation of Italian association for the study of liver (AISF). Liver Transplantation in Italy: current status. *Digestive Liver Diseases* 2000;32: 249-256
- ¹⁴¹ <http://www.airt.it/Legislazione/Nazionali/Legge91.html>
- ¹⁴² <http://www.swissinfo.ch/ita/societa/Trapianti: la ricetta del successo spagnolo.html?cid=34755984>
- ¹⁴³ Jain, A., Fung. J.J et al. Incidence and treatment of rejection episodes in primary OLT under FK 506. *Transplant Proc.* 23:928-30; 1991
- ¹⁴⁴ Khan B.D., Cyclosporine: the agent and its action. In Kahan B.D. (ed): Cyclosporine. Grune and Stratton, New York, 5-18; 1985
- ¹⁴⁵ Mc Cauley J., Van Thiel D.H. et al., Acute and Chronic renal failure in liver transplantation *Nephron* 55:121-8;1990
- ¹⁴⁶ Greenberg A., Egel J.W., Thompson M.E. et al.:Early and forms of cyclosporine nephrotoxicity: Studies in cardiac transplant recipients. *Am. J. Kidney Dis.* 9:12-22; 1987
- ¹⁴⁷ Myers B.D.: Cyclosporine nephrotoxicity. *Transplantation* 30:964-74;1986
- ¹⁴⁸ Coffman T.M., Carr D.R. et al. Evidence that renal prostaglandin and thromboxane production is stimulated in chronic cyclosporine nephrotoxicity. *Transplantation* 43:282-5;1987.
- ¹⁴⁹ De Groen P.C. Weisner R.H. et al. Advanced liver failure predisposes to cyclosporine-induced central nervous system symptoms after liver transplantation. *Transplantation. Proc.* 21:2456; 1989
- ¹⁵⁰ Keown P.A.: Clinical application of therapeutic drug monitoring: optimizing cyclosporine therapy: dose, levels, and monitoring. *Transplantation Proc.* 19:2440-42; 1987
- ¹⁵¹ Tocci M. J., Matkovich D.A. et al. The immunosuppressant FK506 selectively inhibits expression of early T- cell activation genes. *J. immunol.* 143:718-726; 1989

-
- ¹⁵² Crabtree G.R.: Contingent geneic regulatory evrnt in T lymphocyte activation Svience 246:1617-20; 1989
- ¹⁵³ Fung J.J., ABU El-Magd K. et al. A randomized trial of primary liver transplantation under immunosuppression with FK506 vs CsA Transplant. Proc. 23:2977-83;1991
- ¹⁵⁴ D'amico D. F., Bassi N. Il trapianto di fegato (ED) Masson 1993
- ¹⁵⁵ Hoofnagle JH, Di Bisceglie AM. The treatment of chronic viral hepatitis. N Engl J Med 1997;226: 347-356.
- ¹⁵⁶ Mchutchinson JG, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. N Engl J Med 1998;339: 1485-1492.
- ¹⁵⁷ Poynard T, et al. Randomised trial of interferon α 2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 week versus interferon α 2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. Lancet 1998;352: 1426-1432.
- ¹⁵⁸ Marcellin P, et al. Long-term histologic improvement and loss of detectable intrahepatic HCVRNA in patients with chronic hepatitis C and sustained response to interferon-a therapy. Ann Intern Med 1997;127: 875-881.
- ¹⁵⁹ De Rave S, Vrolijk JM, Schalm SW. The optimal treatment strategy for chronic hepatitis C. Med Hypotheses. 2005;65(2):238-42.
- ¹⁶⁰ Farci, P., Shimoda, A., Coiana, A., et al. The outcome of acute hepatitis C predicted by the evolution of the viral quasispecies. Science 2000;288:339-344.
- ¹⁶¹ Edelson RM Extracorporeal photopheresis. Photodermatol. 1984 Oct;1(5):209-10. PMID: 6531298 [PubMed - indexed for MEDLINE].
- ¹⁶² Kovary PM, Frosch P, Macher E. Photochemotherapy of Sezary syndrome. Dermatologica. 1981;162(2):112-7. PMID: 7018942 [PubMed - indexed for MEDLINE].
- ¹⁶³ Berger CL, Longley J, Hanlon D, Girardi M, Edelson R. The clonotypic T cell receptor is a source of tumor-associated antigens in cutaneous T cell lymphoma. Ann N Y Acad Sci 2001;941:106-22.
- ¹⁶⁴ Mork NJ, Gaudernack G, Braathen LR. Effect of UVA and PUVA on alloactivating and antigen-presenting capacity of human epidermal Langerhans cells. Photodermatology 1987;4:66-72.
- ¹⁶⁵ Seaton ED, Szydlo RM, Kanfer E, Apperley JF, Russell-Jones R. Influence of extracorporeal photopheresis on clinical and laboratory parameters in chronic graft-versus-host disease and analysis of predictors of response. Blood 2003;102:1217-23.
- ¹⁶⁶ Foss FM, Gorgun G, Miller KB. Extracorporeal photopheresis in chronic graft-versus-host disease. Bone Marrow Transplant 2002;29:719-25.
- ¹⁶⁷ Foss FM, Di Venuti GM, Chin K, et al. Prospective study of extracorporeal photopheresis in steroid-refractory or steroid-resistant extensive chronic graft-versus-host disease: analysis of response and survival incorporating prognostic factors. Bone Marrow Transplant 2005;45:1187-93.
- ¹⁶⁸ Messina C, Locatelli F, Lanino E, et al. Extracorporeal photochemotherapy for paediatric patients with graft-versus-host disease after haematopoietic stem cell transplantation. Br J Haematol 2003;122:118-27.
- ¹⁶⁹ Apisarnthanarax N, Donato M, Korbliing M, et al. Extracorporeal photopheresis therapy in the management of steroid-refractory or steroid-dependent cutaneous chronic graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation: feasibility and results. Bone Marrow Transplant 2003;31:459-65.
- ¹⁷⁰ Gorgun G, Miller KB, Foss FM. Immunologic mechanisms of extracorporeal photochemotherapy in chronic graft-versus-host disease. Blood 2002;100:941-7.

-
- ¹⁷¹ Alcindor T, Gorgun G, Miller KB, et al. Immunomodulatory effects of extracorporeal photochemotherapy in patients with extensive chronic graft-versus-host disease. *Blood* 2001;98:1622-5.
- ¹⁷² Salskov-Iversen M, Berger CL, Edelson RL. Rapid construction of a dendritic cell vaccine through physical perturbation and apoptotic malignant T cell loading. *J Immune Based Ther Vaccines* 2005;3:4.
- ¹⁷³ Berger CL, Xu AL, Hanlon D, et al. Induction of human tumor-loaded dendritic cells. *Int J Cancer* 2001;91:438-47.
- ¹⁷⁴ Girardi M, Berger C, Hanlon D, Edelson RL. Efficient tumor antigen loading of dendritic antigen presenting cells by transimmunization. *Technol Cancer Res Treat* 2002;1:65-9.
- ¹⁷⁵ Lamioni A, Parisi F, Isacchi G, et al. The immunological effects of extracorporeal photopheresis unraveled: induction of tolerogenic dendritic cells in vitro and regulatory T cells in vivo. *Transplantation* 2005;79: 846-50.
- ¹⁷⁶ Bladon J, Taylor PC. Early reduction in number of T cells producing proinflammatory cytokines, observed after extracorporeal photopheresis, is not linked to apoptosis induction. *Transplant Proc* 2003;35:1328-32.
- ¹⁷⁷ Van Thiel D.H., Schade R., Gavaler J. et al.: Medical aspects of liver transplantation. *Hepatology* 4:795-835; 1984.
- ¹⁷⁸ Iwatsuki S., Starzl T.E., Gordon R.D. et al.: Late mortality and morbidity after liver transplantation. *Transplant Proc.* 212:2373-2377; 1987.
- ¹⁷⁹ Kirby R.M., McMaster P., Clements D. et al.: Orthotopic liver transplantation: Postoperative complications and their management. *Br. J. Surg.* 74:3-11; 1987.
- ¹⁸⁰ Wood R.P., Shaw B.W. JR., Starzl T.E.: Extrahepatic complications of liver transplantation. *Semin. Liver. Dis.* 5:377-384; 1985.
- ¹⁸¹ Fagioli S., Gasbarrini A., Azzarone A. et al.: FK506: a new immunosuppressive agent for organ transplantation. Pharmacology, mechanism of action and clinical applications. *Ital. J. Gastroenterol.* 24:335-360; 1992.
- ¹⁸² Fung J.J., Alessiani M., Abu-Elmagd K. et al.: Adverse effects associated with the use of FK 506. *Transplant. Proc.* 23:3105-3108; 1991.
- ¹⁸³ Wheatley H.C., Datzman M., Williams J.W. et al.: Long-term effects of cyclosporine on renal function in liver transplant recipients. *Transplantation* 43:641-647; 1987.
- ¹⁸⁴ Williams R., Blackburn A., Neuberger J. et al.: Longterm use of cyclosporin in liver grafting. *Q. J. Med.* 57:897-905; 1985.
- ¹⁸⁵ Kahan B.D.: Cyclosporine nephrotoxicity: Pathogenesis, prophylaxis, therapy, and prognosis. *Am. J. Kidney. Dis.* 7:323-331; 1986.
- ¹⁸⁶ Mccauley J., Fung J.J., Todo S. et al.: Changes in renal function after liver transplantation under FK 506. *Transplant Proc.* 23:3143-3145, 1991.
- ¹⁸⁷ Iwatsuki S., Popovtzer M.M., Corman J.L. et al.: Recovery from hepatorenal syndrome after orthotopic liver transplantation. *N. Engl. J. Med.* 289:1155-1159; 1973.
- ¹⁸⁸ Polson R.J., Park G.R., Lindop M.J. et al.: The prevention of renal impairment in patients undergoing orthotopic liver grafting by infusion of low dose dopamine. *Anaesthesia* 42:15-19; 1987.
- ¹⁸⁹ Polson R.J., Park G.R., Lindop M.J. et al.: The prevention of renal impairment in patients undergoing orthotopic liver grafting by infusion of low dose dopamine. *Anaesthesia* 42:15-19; 1987.

-
- ¹⁹⁰ Curtis J.J., Luke R.G., Jones P. et al.: Renal vasoconstriction in cyclosporin-treated transplant recipients without other evidence of nephrotoxicity. *Kidney Int.* 29:428; 1986.
- ¹⁹¹ Bellet M., Cabrol C., Sassano P. et al.: Systemic hyper-tension after cardiac transplantation: Effect of cyclosporine on the renin-angiotensin-aldosterone system. *Am. J. Cardiol.* 56:927-931; 1985.
- ¹⁹² Joss D.V., Barrett A.J. et al.: Hypertension and convulsions in children receiving cyclosporin A. *Lancet* 1:906; 1982.
- ¹⁹³ Lawless S., Ellis D., Thomson A. et al.: Mechanisms of hypertension during and after orthotopic liver transplantation in children. *J. Pediatrics* 115:372-379; 1989.
- ¹⁹⁴ Lustig S., Silis V., Berger M.E. et al.: Effect of low dose cyclosporin A on blood pressure and arterial contractility in spontaneously hypertensive rats. *Kidney Int.* 29:251; 1986.
- ¹⁹⁵ Siegl H., Ryffel B.: Effect of cyclosporin on rennin angiotensin-aldosterone system. *Lancet* 2:1274; 1982.
- ¹⁹⁶ Henderson J.M., Mackay G.J., Hooks M. et al.: High cardiac output of advanced liver disease persists after ortho-topic liver transplantation. *Hepatology* 15:258-262; 1992.
- ¹⁹⁷ Moser K.M., Spragg R.G.: Use of the balloon-tipped pulmonary catheter in pulmonary disease. *Ann. Intern. Med.* 98:53-58; 1983.
- ¹⁹⁸ Sitzmann J.V., Townsend T.R., Siler M.C. et al.: Septic and technical complications of central venous catheterization. *Ann. Surg.* 202:766-770; 1985.
- ¹⁹⁹ Krowka M.J., Cortese D.A.: Pulmonary aspects of liver disease and liver transplantation. *Clinics in Chest Medicine* 10:593-616; 1989.
- ²⁰⁰ Thompson A.B., Rickard K.A., SHAW B.W. et al.: Pulmonary complications and disease severity in adult liver transplant recipients. *Transplant Proc.* 20:646-649; 1988.
- ²⁰¹ Burns J.: Caring for the patient with a pigtail drainage catheter. *Nursing* 22:52-53; 1992.
- ²⁰² Wood R.P., Tzakis A., Shaw B.W. JR. et al.: A simplified technique for the treatment of simple pleural effusions. *Surg. Gynecol. Obstet.* 164:283-284; 1987.
- ²⁰³ Pape L.A., Haffajee C.I., Markis J.E. et al.: Fatal pulmonary hemorrhage after use of the flow-directed balloon-tipped catheter. *Ann. Intern. Med.* 90:344-347; 1979.
- ²⁰⁴ Matuschak G.M., Shaw B.W. JR.: Adult respiratory distress syndrome associated with acute liver allograft rejection: Resolution following hepatic retransplantation. *Crit. Care Med.* 15:878-881; 1987.
- ²⁰⁵ Adams D., Gunson B., Honigsberger L. et al.: Neurological complications following liver transplantation. *Lancet* 1:949-951; 1987.
- ²⁰⁶ Balthazor J.E.: Steroid psychosis and hepatic encephalopathy in liver transplant patients: which is and what to do? *Critical Care Nursing Quarterly* 14:51-55; 1991.
- ²⁰⁷ Lopez O.L., Estol C., Colina I. et al.: Neurological complications after liver transplantation. *Hepatology* 16:1621-166; 1992.
- ²⁰⁸ Vogt D.P., Lederman R.J., Carey W.D. et al.: Neurologic complications of liver transplantation. *Transplantation* 45:1057-61; 1988.
- ²⁰⁹ Hockerstedt K., Kaiaste S., Isoniemi H. et al.: Tests for encephalopathy before and after liver transplantation. *Transplant. Proc.* 22:1576-1578; 1990.

-
- ²¹⁰ Powell E.E., Pender M.P., Chalk J.B. et al.: Improvement in chronic hepatocerebral degeneration following liver transplantation. *Gastroenterology* : 98:1079-1082; 1990.
- ²¹¹ Eidelman B., Abu-Elmagd K., Wilson J. et al.: Neurologic complications of FK506. *Transplant. Proc.* 23:3175-3178; 1991.
- ²¹² Freise C.E., Rowley H., Lake J. et al.: Similar clinical presentation of neurotoxicity following FK506 and Cyclosporine in a liver transplant recipient. *Transplant. Proc.* 23:3173-3174; 1991.
- ²¹³ Lopez O.L., Martinez A.J., Torre-Cisneros J.: Neuropathologic findings in liver transplantation: a comparative study of Cyclosporine and FK506. *Transplant. Proc.* 23:3181-3182; 1991.
- ²¹⁴ Bird G.L., Meadows J., Goka J. et al.: Cyclosporine-associated akinetic mutism and extrapyramidal syndrome after liver transplantation. *J. Neurol. Neurosurg. Psych.* 53:1068-1071; 1990.
- ²¹⁵ Boon A.P., Adams D.H., Carey M.P. et al.: Cyclosporine-associated cerebral lesions in liver transplantation. *Lancet* 1:1457; 1988.
- ²¹⁶ Deierhoi M.H., Kalayoglu M., Sollinger H.W. et al.: Cyclosporine neurotoxicity in liver transplant recipients: report of three cases. *Transplant. Proc.* 20:116-118; 1988.
- ²¹⁷ Estol C.J., Lopez O., Brenner R.P. et al.: Seizures after liver transplantation: A clinicopathologic study. *Neurology* 39:1297-1301; 1989.
- ²¹⁸ Wszolek Z.K., Aksamit A.J., Ellingson R.J. et al.: Epileptiform electroencephalographic abnormalities in liver transplant recipients. *Ann. Neurol.* 30:37-41; 1991.
- ²¹⁹ Estol C.J., Faris A.A., Martinez A.J. et al.: Central pontine myelinolysis alter liver transplantation. *Neurology* 39:493-498; 1989.
- ²²⁰ Wszolek Z.K., McComb R.D., Pfeiffer R.F. et al.: Pontine and extra pontine myelinolysis following liver transplantation. *Transplantation* 48:1006-1012; 1989.
- ²²¹ Martin D.: Fluid and electrolyte balance during liver transplantation. In Winter P.M., Kang Y.G. (eds): *Hepatic Transplantation* New York, Praeger Publishers, 33-43; 1988.
- ²²² Ewalenko P., Deloof T., Peeters T.: Composition of fresh frozen plasma. *Crit. Care. Med.* 14:145-146; 1986.
- ²²³ Gray T.A., Buckley B.M., Sealey M.M. et al.: Plasmaionized calcium monitoring during liver transplantation. *Transplantation* 41:335-339; 1986.
- ²²⁴ Mieles L., Todo S., Fung J.J. et al.: Oral glucose intolerance test in liver recipients treated with FK506. *Transplant Proc.* 22: 41-43; 1990.
- ²²⁵ Adams D.H., Ponsford S., Gunson B. et al.: Neurological complications following liver transplantation. *Lancet* 1:949-51; 1987.
- ²²⁶ Beal M.F., O'carroll C.P., Kleinman G.M. et al.: Aspergillosis of the nervous system. *Neurology* 32:473-479; 1982.
- ²²⁷ Boon A.P., Adams D.H., Buckels J. et al.: Cerebral aspergillosis in liver transplantation. *J. Clin. Pathol.* 43:114-118; 1990.
- ²²⁸ Conen P.E., Walker G.R., Turner J.A. et al.: Invasive primary aspergillosis of the lung with cerebral metastasis and complete recovery. *Dis.Chest* 42:88-94; 1962.
- ²²⁹ Green M., Wald E.R., Tzakis A. et al.: Aspergillosis of the CNS in a pediatric liver transplant recipient: case, report and review. *Reviews of Infectious disease.* 13(4):653-7; 1991.

-
- ²³⁰ Kusne S., Dummer J.S., Singh N. et al.: Fungal infections after liver transplantation. *Transplant Proc.* 20 (suppl.I):650-651; 1988.
- ²³¹ Schroter G.P.J., Hoelscher M., Putnam C.W. et al.: Infections complicating orthotopic liver transplantation: A study emphasizing graft-related septicemia. *Arch. Surg.* 111:1337-1347; 1976.
- ²³² Ho M.: Infection and organ transplantation. In S.Gelman (Ed.) *Anesthesia and Organ transplantation*. Philadelphia, W.B. Saunders, 1987.
- ²³³ Ho M.: Infections in liver transplant recipients. In Winter P.M., Kang Y.G. eds. *Hepatic Transplantation*. 202-214; 1986.
- ²³⁴ Kusne S., Dummer J.S., Singh N. et al.: Infections after liver transplantation. An analysis of 101 consecutive cases. *Medicine (Baltimore)* 67:132-143; 1988.
- ²³⁵ Fulginiti V.A., Schribner P., Groth C.G. et al.: Infections in recipients of liver omografts. *N. Engl. J. Med.* 279:619-626; 1968.
- ²³⁶ George D.L., Arnow P.M., Fox A.S. et al.: Bacterial infection as a complication of liver transplantation: epidemiology and risk factors. *Reviews of Infectious diseases* 13:387-96; 1991.
- ²³⁷ Paya C.V., Hermans P.E.: Bacterial infections after liver transplantation. *European Journal of clinical Microbiology & Infectious Disease.* 8(6):499-504; 1989.
- ²³⁸ Warren R.E.: Bacterial and fungal infections. In: Calne R.Y., (ed.) *Liver transplantation*. 2nd ed., 331-63; 1987.
- ²³⁹ Franson T.R., Hierholzer W.J.JR., La Breque D.R.: Frequency and characteristics of hyperbilirubinemia associated with bacteremia. *Rev. Infect. Dis.* 7:1-9; 1985.
- ²⁴⁰ Breinig M.K., Zitelli B., Starà T.E. et al.: Epstein-Barr virus., cytomegalovirus and other viral infections in children after liver transplantation. *J. Infect. Dis.* 157:273-279; 1987.
- ²⁴¹ Ho M.: Virus infections after transplantation in man. *Arch. Virol.* 55:1-24; 1977.
- ²⁴² Sing N., Dummer J.S., Kusne S. et al.: Infections with cytomegalovirus and other herpes viruses in 121 liver transplant recipients: Transmission by donated organs and the effect of OKT3 antibodies. *J. Infect. Dis.* 158:124-131; 1988.
- ²⁴³ Bronsther O., Makowka L., Jaffe R. et al.: Occurrence cytomegalovirus hepatitis in liver transplant patients. *J. Med. Virol.* 24:423-34; 1988.
- ²⁴⁴ Ho M.: *Cytomegalovirus: biology and infection (A comprehensive monograph)*. Plenum Press, NY; 1982.
- ²⁴⁵ Jacobs F., Van De Stadt J., Bourgeois N. et al.: Severe infection after liver transplantation. *Transplant Proc.* 21:2271-2273; 1989.
- ²⁴⁶ Paya C.V., Hermans P.E., Wiesner R.H. et al.: Cytomegalovirus hepatitis in liver transplantation. Prospective analysis of 93 consecutive orthotopic liver transplantations. *J. Inf. Dis.* 160:752-758; 1989.
- ²⁴⁷ Stratta R.J., Shaefer M.S., Markin R.S. et al.: Clinical patterns of cytomegalovirus disease after liver transplanttion. *Arch. Surg.* 124:1443-1450; 1989.
- ²⁴⁸ Paya C.V., Smith T.F., Ludwig J. et al.: Rapid shell vial culture and tissue histology compared with serology for the rapid diagnosis of cytomegalovirus infection in liver transplantation. *Mayo Clin. Proc.* 64:670-675; 1989.
- ²⁴⁹ Smith T.F.: Rapid methods for the diagnosis of viral infections. *Lab. Med.* 18:16-20; 1987.

-
- ²⁵⁰ Harbison M.A., De Girolami P.C., Jenkins R.L.: Gancyclovir therapy of severe cytomegalovirus infections in solid-organ transplant recipient. *Transplantation* 46:82-88; 1988.
- ²⁵¹ Mai M., Nery J., Sutker B. et al.: DHPG (Gancyclovir) improves survival in CMV pneumonia. *Transplant Proc.* 21:2263-2265; 1989.
- ²⁵² Paya C.V., Hermans P.E., Smith T.F. et al.: Efficacy of Gancyclovir in liver and kidney transplant recipients with severe cytomegalovirus infection. *Transplantation* 46:229-234; 1988.
- ²⁵³ Awad J., Peters M.G., Brunt E. et al.: Herpes viral hepatitis in liver transplant recipients. *Clin. Transplantation* 6:16-20; 1992.
- ²⁵⁴ Ho M.: Herpes virus infections in transplant patients. In de la Maza, E.M. Peterson (Eds.). *Medical Virology* V. Hillsdale, Lawrence Erlbaum Associates, Inc., 1986.
- ²⁵⁵ Ho M., Jaffee R., Miller G. et al.: The frequency of the EBV infection and associated lymphoproliferative syndrome after transplantation and its manifestations in children. *Transplantation* 45:719-727; 1988.
- ²⁵⁶ Lamy M.E., Favart A.M., Cornu C. et al.: Epstein-Barr Virus infection in 59 orthotopic liver transplant patients. *Med. Microbiology and Immunology* 179:137-144; 1990.
- ²⁵⁷ Purtilo D.T.: Malignant lymphoproliferative disease induced by Epstein-Barr virus in immunodeficient patients including X-linked cytogenetic and familial syndromes. *Can. Genet. Cytogenet.* 4:251-268; 1982.
- ²⁵⁸ Randhawa P.S., Markin R.S., Starzl T.E. et al.: Epstein-Barr Virus-associated syndromes in immunosuppressed liver transplant recipients. *Am. J. of Surg. Pathol.* 14:538-547; 1990.
- ²⁵⁹ Stieber A.C., Boillot O., Scotti-Foglieni C. et al.: The surgical implications of the post-transplant lymphoproliferative disorders. *Transplant Proc.* 23(1) 1477-1479; 1991.
- ²⁶⁰ Nalesnik M.A., Jaffe R., Starzl T.E. et al.: The pathology of post-transplant lymphoproliferative disorders (PTLD's) occurring in the setting of cyclosporin A-prednisone immunosuppression. *Am. J. Pathol.* 133:173-192; 1988.
- ²⁶¹ Nalesnik M.A., Makowka L., Starzl T.E.: The diagnosis and treatment of post-transplant lymphoproliferative disease. *Curr. Probl. Surg.* 25:37-47; 1988.
- ²⁶² Castaldo P., Stratta R.J., Wood P.R. et al.: Clinical Spectrum of fungal infections after orthotopic liver transplantation. *Arch. Surg.* 126:149-156; 1991.
- ²⁶³ Castaldo P., Stratta R.J., WOOD R.S. et al.: Fungal disease in liver transplant recipients: a multivariate analysis risk factors. *Transpl Proceedings* 23(1):1517-1519; 1991.
- ²⁶⁴ Schroter G.P.J., Hoelscher M., Putnam C.W. et al.: Fungal infections after liver transplantation. *Arch. Surg.* 186:115-122; 1977.
- ²⁶⁵ Wajszczuk C.P., Dummer J.S., Ho M. et al.: Fungal infections in liver transplant recipients. *Transplantation*, (in press).
- ²⁶⁶ Walsh T.J., Hier D.B., Caplan L.R.: Aspergillosis of the central nervous system: clinicopathological analysis of 17 patients. *Ann. Neurol.* 18:574-582; 1985.
- ²⁶⁷ Markin R.S., Stratta R.J., Woods G.L.: Infection after liver transplantation. *Amer. Journal. of Surgical Pathology.*; 1:64-78; 1990
- ²⁶⁸ Banff schema for grading liver allograft rejection: an international consensus document. *Hepatology.* 1997;25:658-663

-
- ²⁶⁹ Wiesner RH. et al. Acute hepatic allograft rejection: incidence, risk factors, and impact on outcome. *Hepatology* 1998;28:638-645
- ²⁷⁰ Dousset B. et al. Is acute rejection deleterious to long- term liver allograft function? *Journal of Hepatology*. 1998; 29:660-668
- ²⁷¹ Demetris AJ. et al. Real time monitoring of acute liver-allograft rejection using the Banff schema. *Transplantation*. 2002;74:1290-6
- ²⁷² Demetris A. et al. Update of the International Banff schema for liver allograft rejection: working recommendations for the histopathologic staging and reporting of chronic rejection. An International Panel. *Hepatology*. 2000;31:792-799
- ²⁷³ Desley A.H Neil. et al. Histologic and biochemical changes during the evolution of chronic rejection of liver allografts *Hepatology* 2002;35:639-651
- ²⁷⁴ Blakolmer K. et al. Analysis of the reversibility of chronic liver allograft rejection implications for a staging schema. *Am J Surg Pathol*. 1999;23:1328-1339
- ²⁷⁵ Devlin J. et al. Angiographically determined arteriopathy in liver graft dysfunction and survival. *Journal of Hepatology* 1993;18:68-73
- ²⁷⁶ Demetris AJ. et al. Chronic rejection. A general overview of histopathology and pathophysiology with emphasis on liver, heart and intestinal allografts. *Ann Transplant* 1997;2:27-44
- ²⁷⁷ Lehrer MS, Ruchelli E, Olthoff KM, et al: Successful reversal of recalcitrant hepatic allograft rejection by photopheresis. *Liver Transpl* 6:644, 2000
- ²⁷⁸ Urbani L, Mazzoni A, De Simone P, et al: Avoiding calcineurin inhibitors in the early post-operative course in high-risk liver transplant recipients: the role of extracorporeal photopheresis. *J Clin Apher* 22:187, 2007
- ²⁷⁹ Urbani L, Mazzoni A, Simone PD, Catalano G, Coletti L, Montin U, Morelli L, Campani D, Pollina L, Biancofiore G, Bindi L, Scatena F, Filipponi F. Treatment of antibody-mediated rejection with high-dose immunoglobulins in ABO-incompatible liver transplant recipient. *Transpl Int* 2007;20:467–470
- ²⁸⁰ Urbani L, Mazzoni A, Bianco I, et al: The role of immunomodulation in ABO-incompatible adult liver transplant recipients. *J Clin Apher* 23:55, 2008
- ²⁸¹ Berenguer M, Prieto M, San Juan F, et al: Contribution of donor age to the recent decrease in patient survival among HCV-infected liver transplant recipients. *Hepatology* 36:202, 2002
- ²⁸² Mutimer DJ, Gunson B, Chen J, et al: Impact of donor age and year of transplantation on graft and patient survival following liver transplantation for hepatitis C virus. *Transplantation* 81:7, 2006
- ²⁸³ Urbani L, Mazzoni A, De Simone P et al. Avoiding calcineurin inhibitors in the early post-operative course in high-risk liver transplant recipients: The role of extracorporeal photopheresis. *J Clin Apher* 2007: 22:187
- ²⁸⁴ Urbani L, Mazzoni A, Bianco I et al. The role of immunomodulation in ABO-incompatible adult liver transplant recipients. *J Clin Apher* 2008: 23: 55
- ²⁸⁵ L. Urbani, A. Mazzoni, P. Colombatto, G. Biancofiore, L. Bindi, C. Tascini, F. Menichetti, M. Brunetto, F. Scatena, and F. Filipponi, A Novel Immunosuppressive Strategy Combined with Preemptive Antiviral Therapy Improves then Eighteen-Month Mortality in HCV Recipients Transplanted with Aged Livers, *Transplantation* • Volume 86, Number 12, December 27, 2008

-
- ²⁸⁶ L. Urbani, A. Mazzoni, P. Colombatto, G. Biancofiore, L. Bindi, C. Tascini, F. Menichetti, M. Brunetto, F. Scatena, and F. Filipponi, Potential Applications of Extracorporeal Photopheresis in Liver Transplantation, *Transplantation Proceedings*, 40, 1175–1178 (2008)
- ²⁸⁷ Kamath Ps, Wiesner Rh, Malinchoc M, Kremers W, Therneau Tm, Kosberg Cl, D'amico G, Dickson Er, Kim WR. A model to predict survival in patients with end-stage liver disease. *Hepatology* 2001; 33(2): 464-70
- ²⁸⁸ J. B. Halldorson, R. Bakthavatsalam, O. Fix, J. D. Reyes and J. D. Perkins: D-MELD, a Simple Predictor of Post Liver Transplant Mortality for Optimization of Donor/Recipient Matching, *American Journal of Transplantation* 2009; 9: 318–326